

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1938

THÈSE

N°

428

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'État)

PAR

Noël-Etienne-René RIST

Né le 22 Décembre 1906, à Montpellier (Hérault)

L'ALLERGIE CONFÉRÉE

PAR LES

BACILLES TUBERCULEUX MORTS
ENROBÉS DANS LES PARAFFINES

ÉTUDE EXPÉRIMENTALE

Travail du Laboratoire de Recherches sur la Tuberculose (Institut Pasteur)

Président : M. HARVIER, Professeur

PARIS

LIBRAIRIE E. LE FRANÇOIS

91, BOULEVARD ST-GERMAIN, 91

1938



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551829_0036

FACULTE DE MEDECINE DE PARIS

ANNÉE 1938

THÈSE

N°

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'État)

PAR

Noël-Etienne-René RIST

Né le 22 Décembre 1906, à Montpellier (Hérault)

L'ALLERGIE CONFÉRÉE

PAR LES

BACILLES TUBERCULEUX MORTS
ENROBÉS DANS LES PARAFFINES

ÉTUDE EXPÉRIMENTALE

Travail du Laboratoire de Recherches sur la Tuberculose (Institut Pasteur)

Président : M. HARVIER, Professeur

PARIS

LIBRAIRIE E. LE FRANÇOIS

91, BOULEVARD ST-GERMAIN, 91

1938

I. — PROFESSEURS

	MM.
Anatomie	ROUVIÈRE.
Physiologie	Léon BINET.
Physique médicale	STROHL.
Chimie médicale	POLONOVSKI.
Bactériologie	Robert DEBRÉ.
Parasitologie et histoire naturelle médicale	BRUMPT.
Pathologie et thérapeutique générales	BAUDOUIN.
Pathologie médicale	ABRAMI.
Pathologie chirurgicale	CHEVASSU.
Anatomie pathologique	LEROUX.
Histologie	CHAMPY.
Pharmacologie et matière médicale	TIFFENEAU.
Thérapeutique	HARVIER.
Hygiène et médecine préventive	TANON.
Médecine légale	BALTHAZARD.
Histoire de la médecine et de la chirurgie	LAIGNEL-LAVASTINE.
Pathologie expérimentale et comparée	FIESSINGER.
Hydrologie thérapeutique et climatologie	CHIRAY.
	LOEPER.
Clinique médicale	CARNOT
	CLERC.
	Marcel LABBÉ.
Hygiène et clinique de la première enfance.	LEREBOULLET.
Clinique des maladies des enfants	NOBÉCOURT.
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale.	H. CLAUDE.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	GOUGEROT.
Clinique des maladies du système nerveux	GUILLAIN.
Clinique des maladies infectieuses	LEMIERRE.
	CUNÉO.
Clinique chirurgicale	GOSSET.
	GRÉGOIRE.
	LENORMANT.
Clinique ophtalmologique	TERRIEN.
Clinique urologique	MARION.
	COUVELAIRE.
Clinique d'accouchements	JEANNIN.
	LÉVY-SOLAL.
Clinique gynécologique	MOCQUOT.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	OMBRÉDANNE
Clinique thérapeutique médicale	RATHERY.
Clinique oto-rhino-laryngologique	LEMAITRE.
Clinique thérapeutique chirurgicale	Pierre DUVAL
Clinique propédeutique	M. VILLARET.
Clinique de la Tuberculose	BEZANÇON.
Clinique chirurgicale orthopédique de l'adulte	MATHIEU.
Clinique cardiologie	LAUBRY.
Clinique d'Assistance Médico-sociale	CROUZON.
	HOVELACQUE.
Professeurs sans chaire	MULON.
	OLIVIER.
	VERNE.



II. — AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM

AMELINE	Pathologie chirurgicale.
BARIÉTY	Pathologie médicale.
BÉNARD (Henri) .	Pathologie médicale.
BERNARD Étienne	Pathologie médicale.
BESANÇON (J.) ..	Hydrologie.
BOULIN	Pathologie médicale.
BULLIARD	Histologie.
CATHALA	Pathologie médicale.
CHEVALLIER ...	Pathologie médicale.
COSTE	Pathologie médicale.
DOGNON	Physique.
FEY	Urologie.
FUNCK	Pathologie chirurgicale.
GALLIARD	Parasitologie.
GASTINEL	Bactériologie.
DE GAUDART D'ALLAINES.	Pathologie chirurgicale.
GAYET.	Physiologie.
DE GENNES	Pathologie médicale.
GIROUD	Histologie.
HAGUENAU	Pathologie médicale.
HALPHEN	Oto-rhino-laryngologie.
HAZARD	Pharmacologie.
HUGUENIN	Anatomie pathologique
JOANNON	Hygiène.

MM.

LACOMME	Obstétrique.
LANTUÉJOUL ...	Obstétrique.
LAROCHE (Guy) .	Pathologie médicale.
LAVIER	Parasitologie.
LELONG	Pathologie médicale.
LEMAIRE	Pathologie expérimental
LEVEUF	Pathologie chirurgicale.
M ^{me} J. LÉVY	Pharmacologie.
LÉVY-VALENSI .	Neurologie et Psychiâtrie
MÉNÉGAUX	Pathologie chirurgicale.
MOLLARET	Pathologie médicale.
MOREAU	Pathologie médicale.
MOULONGUET ..	Pathologie chirurgicale.
MOUQUIN	Pathologie médicale.
PETIT-DUTAILLIS	Pathologie chirurgicale
PIÉDELIEVRE ..	Médecine légale.
PORTES	Obstétrique.
RENARD	Ophthalmologie.
RICHET	Physiologie.
SANNIÉ	Chimie biologique.
SÈNEQUE	Pathologie chirurgicale.
TROISIÈRE	Pathologie expérimentale
TURPIN	Pathologie médicale.
VIGNES	Obstétrique.
WILMOTH	Pathologie chirurgicale.

III. — AGRÉGÉS RAPPELÉS A L'EXERCICE

pour le service des examens

MM

AIGLAVE	Pathologie chirurgicale.
BUSQUET	Pharmacologie.
CHAILLEY-BERT.	Physiologie.
GUÉNIOT	Obstétrique.
HEITZ-BOYER..	Pathologie chirurgicale.

MM.

LARDENNOIS...	Pathologie chirurgicale.
LE LORIER	Obstétrique.
SCHWARTZ	Pathologie chirurgicale.
VAUDESCAL	Obstétrique.

IV. — AGRÉGÉS CHARGÉS DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE

à titre permanent.

MM.		MM	
ALAJOUANINE ..	} Clinique médicale.	BASSET	} Clinique chirurgicale.
AUBERTIN		BROCQ.....	
BRULÉ		CADENAT.....	
CHABROL.....		GATELLIER	
DONZELOT		MOURE	
DUVOIR		QUENU	
LIAN		VELTER	
PASTEUR - VALLERY - RADOT.....			
SÉZARY			
MM.			
ECALLE	} Clinique obstétricale.		
METZGER			

V. — CHARGÉS DE COURS

MM.	
CHAILLEY-BERT, agrégé	Éducation physique.
LEDOUX-LEBARD	Radiologie clinique.
RUPPE	Stomatologie.
WEIL-HALLÉ	Puériculture.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MES PARENTS

A MES MAÎTRES EN PHTISIOLOGIE

LE DOCTEUR E. RIST

Membre de l'Académie de Médecine
Médecin de l'hôpital Laënnec

LE DOCTEUR MARC JAQUEROD

de Leysin.

A MES MAÎTRES DE L'INSTITUT PASTEUR

LE DOCTEUR L. NÈGRE

Chef de service à l'Institut Pasteur

LE DOCTEUR E. COULAUD

A MON MAITRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR P. HARVIER

Professeur de thérapeutique à la Faculté de Médecine
Médecin de l'Hôpital de la Pitié

A MES MAITRES DANS LES HOPITAUX

MONSIEUR LE PROFESSEUR HARTMANN.

MONSIEUR LE PROFESSEUR CHAUFFARD (*in memoriam*).

MONSIEUR LE DOCTEUR LOUIS RAMOND.

Externat

MONSIEUR LE DOCTEUR E. RIST.

MONSIEUR LE PROFESSEUR LECÈNE (*in memoriam*).

MONSIEUR LE DOCTEUR MONIER-VINARD.

MONSIEUR LE PROFESSEUR HARVIER.

MONSIEUR LE PROFESSEUR COUVELAIRE.

MONSIEUR LE DOCTEUR A. BLOCH.

INTRODUCTION

Seule la présence de bacilles tuberculeux vivants peut accroître la résistance spécifique de l'organisme à l'infection tuberculeuse ; seuls ces bacilles vivants peuvent conférer la sensibilité à la tuberculine. Telles étaient, il y a une quinzaine d'années, les deux données essentielles du problème de l'immunité antituberculeuse, qu'un spirituel profane résumait dans ces termes : « On était anxieux de savoir comment les bacilles à demeure savaient si bien expulser les nouveaux venus ».

Le problème a changé. Ces deux données ne peuvent plus être tenues pour exactes. Au moment même où on les affirmait avec autant de force que de regret, de nouveaux travaux, ceux de BESSAU, de BOQUET et NÈGRE, de PETROFF, venaient les battre en brèche. Néanmoins, beaucoup d'auteurs admettaient il y a cinq ans que si les bacilles tuberculeux morts pouvaient en effet, à grosses doses, sensibiliser le lapin et le cobaye à la tuberculine, cette sensibilité était inconstante, faible et peu durable, et qu'elle ne s'accompagnait d'aucune résistance appréciable vis-à-vis de l'infection tuberculeuse.

A ces auteurs, COULAUD apporte en 1934 des faits évidents et indiscutables. Leurs doutes et leurs restrictions n'ont plus de raison d'être : on peut, par une seule inoculation sous-cutanée de bacilles tuberculeux morts, conférer régulièrement au lapin et au cobaye une sensibilité à la tuberculine très intense et durable, ainsi qu'un accroissement marqué de la résistance aux infections d'épreuve. Il suffit pour cela d'enrober ces bacilles, tués par la chaleur, dans la paraffine.

Ces résultats ne tardèrent pas à être confirmés en France

par SAENZ, qui remplaça la paraffine solide par l'huile de paraffine, en Allemagne par HENSEL, aux États-Unis par J. FREUND et CASALS.

Lorsque notre maître COULAUD nous fit l'honneur de nous associer à ses recherches, trois points attirèrent particulièrement notre attention. Ils font le principal objet de cette thèse.

Il importait de savoir si la vaccination ainsi obtenue mettait l'organisme du lapin et du cobaye en mesure de résister victorieusement à l'infection tuberculeuse, ou si, comme toutes les vaccinations antituberculeuses connues, elle ne se manifestait que par un retard dans l'évolution de l'infection d'épreuve.

Il importait également d'étudier les lésions dues aux « bacilles paraffinés », — lésions locales et foyers métastatiques ganglionnaires et pulmonaires qui nous avaient frappé dès le début de ces recherches — et de les comparer aux lésions que produisent respectivement les bacilles morts et leur excipient.

Nous étions ainsi amené à poser la question des rapports entre les lésions et l'allergie si frappante dont les bacilles morts enrobés dans les paraffines provoquent l'apparition.

Nous ne dissimulerons point, chemin faisant, les nombreuses lacunes de notre savoir. Il serait prématuré de vouloir donner une réponse à toutes les questions que pose déjà le phénomène décrit par COULAUD. Ces questions sont très nombreuses. D'une part en effet ce phénomène est un cas particulier de l'étude des « substances adjuvantes et stimulantes de l'immunité », qui, sous l'impulsion de G. RAMON, est déjà riche de résultats pratiques ; d'autre part on peut prévoir que le procédé de COULAUD, qui permet d'obtenir des animaux fortement allergiques, mais non habités par le bacille tuberculeux vivant, ouvrira de nouvelles voies à l'étude des relations entre l'immunité, l'hypersensibilité et les anticorps en tuberculose.

Ces recherches ont été poursuivies grâce à la libérale et traditionnelle hospitalité de l'Institut Pasteur. Que Monsieur

le Docteur Louis MARTIN et Monsieur Gaston RAMON nous permettent de les en remercier très respectueusement.

Que notre Maître Monsieur le Docteur NÈGRE trouve ici l'expression de notre profonde gratitude, pour l'accueil si bienveillant qu'il nous a réservé dans son laboratoire. Ses conseils précieux et quotidiens ont été pour nous les meilleurs des encouragements.

Pour la partie histologique de ce travail nous devons beaucoup à l'amabilité de Monsieur le Docteur BABLET, qui nous a permis de profiter de son expérience et d'user largement des ressources techniques de son laboratoire. Nous l'en remercions ici bien vivement.

Nos microphotographies sont dues à l'obligeance et au talent de Monsieur JEANTET et du Docteur J. BRETEY.

PREMIÈRE PARTIE

HISTORIQUE

GRANDEUR ET DÉCADENCE DES BACILLES TUBERCULEUX MORTS

Jamais le bacille tuberculeux mort n'aura paru aussi digne d'attention et aussi précieux que le 15 janvier 1891. Ce jour, la *Deutsche Medizinische Wochenschrift* publiait deux fameux paragraphes de Robert Koch.

Dans le premier, Koch décrit le phénomène qui ne tardera pas à porter son nom, et qui est à l'origine de tous les travaux sur l'hypersensibilité due au bacille tuberculeux.

Si à un cobaye sain on inocule une culture pure de bacilles tuberculeux vivants, ce n'est qu'après dix à quatorze jours qu'apparaît au point d'inoculation un nodule dur qui s'ouvre bientôt et produit un ulcère, persistant jusqu'à la mort de l'animal. Les choses se passent tout différemment quand on inocule un animal déjà tuberculeux. Le lieu de la réinoculation devient dès le lendemain ou le surlendemain dur et noirâtre, sur une étendue de 5 à 10 millimètres. La peau se nécrose les jours suivants. Elle ne tarde pas à s'éliminer et laisse à sa place un ulcère superficiel qui guérit rapidement d'une façon définitive, sans que les ganglions voisins soient tuméfiés.

Dans le second paragraphe, Koch fait naître de magnifiques espérances :

«... des cultures de bacilles tuberculeux, tuées, broyées et

mises en suspension dans l'eau, peuvent être injectées en grosses quantités sous la peau du cobaye sain, sans produire autre chose qu'un abcès local. Des cobayes tuberculeux, par contre, sont tués par l'injection de quantités même petites d'une pareille suspension, et cela en 6 à 48 heures, selon la dose employée. Une dose légèrement trop petite pour tuer l'animal, peut provoquer une nécrose étendue de la peau, au niveau de l'injection. Si la suspension est encore plus diluée, les cobayes restent en vie, et lorsque les injections sont poursuivies tous les deux ou trois jours, il se produit bientôt une sensible amélioration dans l'état des animaux. Les chancres d'inoculation se cicatrisent, ce qui n'est jamais observé en dehors d'un pareil traitement. L'état de la nutrition s'améliore et le processus morbide devient stationnaire, lorsqu'il n'est pas tellement avancé que l'animal meure de cachexie ».

« Cette constatation fut le point de départ d'une méthode de traitement de la tuberculose ».

Les bacilles restaient sous la peau au point d'inoculation et y provoquaient l'apparition de petits abcès. Il y avait donc dans les bacilles morts une substance pyogène qui restait attachée aux bacilles, et une substance curatrice, soluble dans les humeurs de l'organisme et qu'il fallait tenter de séparer *in vitro* de la première. KOCH l'extrait des bacilles à l'aide d'une solution glycinée : cet extrait est la tuberculine.

Ainsi les bacilles morts pouvaient, sinon guérir, du moins améliorer nettement les cobayes tuberculeux. C'était sur cette constatation que reposait la découverte du produit dont KOCH annonçait, six mois auparavant, les vertus préventives et curatives, et avec lequel il commençait à traiter les tuberculoses humaines.

Mais « il est étrange de constater, dit STRAUS, sur quelle base fragile s'appuie cette méthode si riche en espoirs illimités » : en effet, l'arrêt dans l'évolution de la tuberculose du cobaye, sous l'influence des bacilles morts, ne fut pas confirmé : et on sait que les espoirs éveillés par KOCH furent cruellement déçus. Ils avaient cependant conduit KOCH à la découverte de la tuberculine, dont l'intérêt théorique et pratique est immense.

Koch attribuait à la tuberculine, substance soluble dans les humeurs et diffusible, les réactions locales, focales et générales provoquées par les bacilles morts chez le cobaye tuberculeux. C'est encore actuellement la théorie la plus satisfaisante (BOQUET 67).

La tuberculine ne prévient pas et ne guérit pas la tuberculose. Mais, a-t-on pensé, peut-être les bacilles morts ont-ils certaines propriétés que la tuberculine n'a pas. Koch lui-même avait individualisé leur pouvoir pyogène.

Nous n'insisterons pas sur les discussions qui ont entouré les descriptions des lésions anatomiques dues aux bacilles morts. Dans l'ensemble, on a rapidement admis que les bacilles tués provoquent l'apparition de lésions très proches des lésions de tuberculose virulente, mais que ces lésions restent localisées au point où on a déposé les bacilles, et évoluent vers la guérison. Nous y reviendrons plus en détail au chapitre d'anatomie pathologique.

On a cherché si les bacilles morts pouvaient conférer un certain degré de résistance à l'infection tuberculeuse. On sait aujourd'hui qu'il en est ainsi.

Pourquoi s'est-on si vivement attaché à sensibiliser les animaux à la tuberculine, par les bacilles morts ? Ce fut, au début, pour tracer les limites de la valeur diagnostique des réactions tuberculiniques. Il fallait savoir si une réaction positive impliquait la présence de bacilles *vivants* dans l'organisme.

Mais, un peu plus tard, on saisit toute l'importance du phénomène de KOCH. PIRQUET (83), CALMETTE et GUÉRIN (23), RÖMER et JOSEPH (94) montrèrent que les animaux tuberculeux, réagissant à la tuberculine, sont réfractaires à une surinfection tuberculeuse. On se rappela les deux caractéristiques du phénomène de KOCH : réaction cutanée rapide et nécrotique — phénomène d'hypersensibilité ; guérison de l'ulcère de surinfection — phénomène d'immunité. On pouvait donc supposer : soit que l'hypersensibilité à la tuberculine était le témoin de l'immunité, soit qu'elle était favorable aux réactions de défense, soit enfin qu'elle était le support même de la résistance à la surinfection. Quelle que fût l'hypothèse adoptée, il devenait très intéressant d'étudier le pou-

voir sensibilisant des vaccins antituberculeux : et cela d'autant plus que la sensibilité d'un animal à la tuberculine est beaucoup plus facile et rapide à mettre en évidence que l'accroissement de sa résistance à l'infection tuberculeuse.

Mais, après de nombreuses tentatives et quelques succès sans lendemain, il était presque partout admis vers 1920 que les tentatives de sensibilisation et de vaccination à l'aide de bacilles morts étaient également vaines. Cette période de l'histoire des bacilles tuberculeux morts a été marquée par un découragement qui rappelle, toutes proportions gardées, l'effondrement des espérances qu'avait soulevées la découverte de KOCH. On en trouve un écho en 1923 dans un article d'UHLENHUTH qui raconte ses espoirs, ses déceptions et sa résignation.

Nous verrons que des expérimentateurs ont jugé utile de reprendre ces tentatives et qu'ils ont été plus heureux.

Nous étudierons successivement l'histoire de la sensibilisation et celle de la vaccination par les bacilles morts, jusqu'à ces dernières années, chez *le lapin et le cobaye*. Sauf indication spéciale, il s'agira dans ce chapitre de bacilles tués par la chaleur, et *mis en suspension dans l'eau*, distillée ou, plus souvent, physiologique.

Rappelons que chez le cobaye ou le lapin tuberculeux on met le plus souvent en évidence la sensibilité à la tuberculine par l'une des trois méthodes suivantes :

— L'inoculation sous-cutanée ou intraveineuse de 0 cc. 2 à 0 cc. 5 de tuberculine brute, qui tue le cobaye tuberculeux en 6 à 48 heures.

— L'inoculation de doses 10 fois plus faibles, qui provoque une élévation thermique de 1° à 3° dans les 8 heures.

— L'inoculation intradermique de tuberculine, qui produit en 24 à 48 heures une papule œdémateuse ou hémorragique et nécrotique. La tuberculine peut, dans toutes ces réactions, être remplacée par des doses équivalentes de bacilles vivants ou morts.

CHAPITRE I

SENSIBILISATION DU LAPIN ET DU COBAYE A LA TUBERCULINE A L'AIDE DE BACILLES MORTS

STRAUS et GAMALEIA, en 1891, apportent une contribution capitale à l'étude des bacilles tuberculeux morts. Au seuil de cette étude, nous ne saurions trouver de meilleure introduction que quelques passages de leur article fondamental :

« Les cadavres des bacilles tuberculeux n'ont pas seulement la propriété de se conserver pendant longtemps dans le corps des animaux. Ils présentent une autre particularité plus importante encore : c'est de garder, quoique morts, une grande partie des propriétés pathogènes caractéristiques du bacille vivant. Nous avons vu, en effet, que l'introduction de ces bacilles morts dans la circulation générale ou dans le péritoine détermine des lésions qui ressemblent, à s'y méprendre, à celles que provoquent les cultures vivantes. L'absence de caséification dans les lésions déterminées par le bacille mort est loin d'être la règle, contrairement à l'opinion de PRUDDEN ».

« Le caractère fondamental qui différencie les effets ainsi provoqués par les bacilles morts de ceux qu'entraîne l'inoculation des bacilles vivants est que les bacilles morts ne déterminent de lésions tuberculeuses qu'à l'endroit même où ils ont été déposés ».

« Il y a plus. Nos expériences montrent qu'outre ces lésions spéciales, et même en l'absence totale de ces lésions, les cadavres des bacilles tuberculeux exercent une autre action plus profonde et plus générale, sur l'économie, se traduisant

par l'amaigrissement progressif, la cachexie et la mort, probablement sous l'influence d'une substance toxique contenue dans les bacilles et lentement abandonnée par eux » (1).

« Même alors que, par la réduction de la dose inoculée, les manifestations générales font défaut, que les animaux continuent à se bien porter et augmentent de poids, l'influence profonde exercée sur eux par l'introduction des bacilles morts n'en persiste pas moins : elle se révèle par la susceptibilité extrême que présentent ces animaux, sains en apparence, à l'égard d'une nouvelle introduction de bacilles tuberculeux ».

« Si (à un tel lapin) on injecte de nouveau des doses très faibles de bacilles, vivants ou morts, la mort a lieu généralement déjà au bout de 24 heures, ce qui ne s'observe jamais, même par l'inoculation de doses énormes, chez le lapin sain. Dans ces cas, les bacilles morts provoquent, non pas une maladie chronique, mais une intoxication aiguë qui se traduit par une fièvre intense et peut amener la mort rapide de l'animal ».

« Si l'on répète tous les dix à douze jours l'injection des faibles doses, en les augmentant graduellement, on arrive à constater chez les lapins une certaine accoutumance à l'introduction des cadavres de bacilles tuberculeux. On peut ainsi faire supporter aux lapins des doses très considérables de bacilles morts, doses qui, injectées à des animaux non préparés, détermineraient sûrement cette vulnérabilité spéciale à l'égard de la réinfection dont il vient d'être parlé » (113).

STRAUS et GAMALEIA ont également tué, en quelques heures, par inoculation intraveineuse de bacilles morts, un lapin sensibilisé par la voie péritonéale.

Voici donc parfaitement décrites la mort par intoxication tuberculinique, ainsi que l'accoutumance à la tuberculine. Sans doute les auteurs ne parlent-ils pas de sensibilisation à la tuberculine, mais de susceptibilité particulière aux bacilles tués. Nous savons que c'est le même phénomène. Et

(1) Straus employait des doses énormes : jusqu'à 50 mgr. de bacilles desséchés dans le vide.

KROMPECHER, en 1900, décrit l'hypersensibilité *thermique* à la tuberculine des lapins préparés par des bacilles virulents tués. Les bacilles avirulents vivants ou tués ne donneraient au contraire aucune hypersensibilité (60).

Enfin A. BORREL en 1908 (18) décrit la sensibilisation du tissu sous-cutané du lapin : « alors que la première inoculation de 1 milligramme de bacilles morts donne un tubercule gros comme une lentille, la cinquième inoculation donne quelquefois un abcès gros comme un œuf de poule ».

Il semblerait donc que la sensibilisation par les bacilles morts doive s'affirmer de plus en plus. Il n'en est rien. En 1908, la méthode si précise de MANTOUX (71), l'intradermo-réaction à la tuberculine, se répand rapidement dans les laboratoires. RÖMER en fait une étude soigneuse (92). Mais par un hasard malheureux, sur onze cobayes qui ont reçu « une grosse dose » de bacilles morts, trois mois auparavant, quatre ne réagissent pas du tout à l'épreuve de MANTOUX, et les sept autres ne répondent que par « une trace de rougeur et un très léger épaissement ». Et RÖMER les oppose aux cobayes tuberculeux qui ont tous réagi, soit par une papule hémorragique ou œdémateuse, soit au moins par un épaissement et une rougeur très nets. RÖMER appelle cette dernière réponse « réaction atypique », et il précise quelques mois plus tard (93) que « cette réaction ne survient que chez des cobayes qui ont été en contact avec le virus tuberculeux vivant ».

L'autorité qui s'attachait au nom de RÖMER explique que son jugement ait été considéré comme définitif. D'autre part les nombreux essais infructueux de vaccination à l'aide de bacilles morts contrastaient avec les succès de la vaccination par les bacilles vivants. BEHRING vaccinait les bovidés, depuis 1902, avec des bacilles humains vivants. Le bacille mort semblait devoir perdre tout intérêt. De fait, en 1917, Th. SMITH (112) considère comme définitivement admis que les bacilles tués ne sensibilisent pas plus à la tuberculine que la tuberculine elle-même. SELTER (108) déclare avec force que la sensibilité conférée au cobaye par les bacilles morts n'est autre qu'une sensibilité anaphylactique aux protéines bacillaires, mise en évidence par BALDWIN en 1910 (3) et bien

différente de celle des animaux tuberculeux à la tuberculine. ZINSSER en 1921, (131) préparant des animaux avec des bacilles morts ou des extraits bacillaires, obtient chez eux des réactions anaphylactiques au niveau du derme (réaction papuleuse apparaissant et disparaissant dans les deux heures qui suivent l'inoculation déchaînante) ou de l'utérus isolé, mais jamais de réaction vraie à la tuberculine, caractérisée par une incubation de quelques heures et un complet développement au bout de quarante-huit heures.

Et J. BORDET traduit l'opinion régnante lorsqu'il écrit « Seuls réagissent nettement à la tuberculine les individus porteurs de lésions tuberculeuses, c'est-à-dire qui hébergent des bacilles tuberculeux vivants » (17).

Pourtant BESSAU, en 1916, avait affirmé (6) que pour obtenir une bonne vaccination il fallait d'abord obtenir une bonne sensibilisation, et que cette sensibilisation pouvait être obtenue chez le cobaye avec des bacilles tués par la chaleur à 65°, *à condition de ne pas chercher à rendre les bacilles mieux résorbables*, ce qu'on avait toujours fait jusqu'alors. Il retrouvait le principe énoncé par H. VALLÉE dès 1911 (117). Et il précise d'emblée tous les points qui seront développés plus tard par d'autres auteurs :

— la sensibilisation n'est obtenue que très irrégulièrement.

— la voie intraveineuse ne donne aucune sensibilisation (avec de petites doses de bacilles : 5 milligrammes pesés humides).

— la sensibilisation par voie péritonéale permet d'obtenir des intradermo-réactions tuberculiniques *typiques* et nécrotiques, mais non la mort par intoxication tuberculinique, après inoculation sous-cutanée de 0 cc. 2 de tuberculine brute.

— la voie sous-cutanée est très infidèle.

— la sensibilité peut durer jusqu'à 11 mois, mais son maximum d'intensité ne dure que quelques semaines.

Mais on était en pleine guerre. BESSAU ne fut guère suivi en Allemagne et ne fut pas lu à l'étranger.

L'année 1923 marque le réveil de l'intérêt porté au bacille mort.

En France, BOQUET et NÈGRE (15) sensibilisent le lapin

par voie veineuse et mesurent cette sensibilité par la réaction *thermique* qui suit l'inoculation intraveineuse de tuberculine (0,01 cc). Un milligramme de bacilles morts peut sensibiliser le lapin, « mais cette quantité et même des quantités dix fois supérieures n'ont parfois aucune action ». La durée de la sensibilité varie entre 2 et 8 mois. COULAUD (27) montre que la qualité de la suspension est aussi importante que la dose inoculée : une suspension volontairement grossière sensibilise plus sûrement qu'une suspension fine, une suspension dans l'huile d'olive provoque des lésions pulmonaires importantes et une sensibilité très aiguë.

En Amérique PETROFF (79), PETROFF et ZINSSER (132) préparent des cobayes par de très grosses doses de bacilles morts (7 à 37 milligrammes de bacilles pesés après dessiccation dans le vide) inoculés, en trois fois, dans la cavité péritonéale. Ils obtiennent chez ces animaux des intradermo-réactions typiques, semblables à celles des cobayes tuberculeux. Ils les distinguent nettement des réactions anaphylactiques dues à différents extraits bacillaires et qu'ils avaient bien étudiées auparavant. L'hypersensibilité ainsi acquise peut durer plus d'une année ; elle est parallèle en durée et en intensité aux lésions dues aux bacilles sensibilisants.

D'après PETROFF, on ne peut plus dire avec A. KRAUSE (56) que la sensibilité à la tuberculine due aux bacilles morts est « faible, inconstante, transitoire ». C'est cependant ce qui ressort des travaux de ses collaborateurs, BRANCH et CUFF, au cours des années suivantes. Résumons ce qu'en disent BRANCH et CUFF (19) :

— on peut sensibiliser fortement et régulièrement le cobaye avec des inoculations intratesticulaires (dose minima sensibilisante : 0,5 mgr. pesés secs), ou intrapéritonéales (3 mgr.) ; mais la voie sous-cutanée exige 5 milligrammes et la voie intra-musculaire 8 milligrammes. Encore cette dose ne donnera-t-elle par cette dernière voie qu'une sensibilité *inconstante* et faible. La voie veineuse ou intracardiaque ne sensibilise pas.

— l'inoculation intraveineuse de 0 cc. 1 à 0 cc. 3 de tuberculine brute à un cobaye tuberculeux détermine : soit la mort immédiate par choc anaphylactique, soit la mort en 8 à 36

heures par choc tuberculinique (BALDWIN). Les cobayes sensibilisés par des bacilles morts meurent parfois de choc anaphylactique, mais s'ils y résistent, ils ne meurent jamais de choc tuberculinique.

— L'inoculation sous-cutanée de 0 cc. 5 de tuberculine brute tue un cobaye tuberculeux, mais non un cobaye sensibilisé par des bacilles morts. Cependant l'inoculation *intrapéritonéale* de 1 cc. 25 de tuberculine tue aussi ces derniers, lorsqu'ils ont été préparés par la même voie. (CRAWFORD (34) PETROFF et STEWART (79)).

Pour terminer cette très incomplète revue bibliographique, signalons que LANGER, en 1924 (65) a conféré la sensibilité tuberculinique à des cobayes et à des *enfants* par plusieurs inoculations intradermiques de 0 mgr. 1 de bacilles tués à 70°. En 1926 Bruno LANGE (63) confirme sur le cobaye les résultats de LANGER et de BESSAU, mais il insiste à son tour sur *l'irrégularité des résultats*, la rareté des intradermo-réactions nécrotiques, la supériorité des voies intrapéritonéales et intradermiques. BOQUET et BRETEY (10) aboutissent à des conclusions analogues, que nous analyserons plus loin en détail.

CHAPITRE II

IMMUNITÉ CONFÉRÉE PAR LES BACILLES TUBERCULEUX MORTS

La question de la vaccination par les bacilles tuberculeux a suivi une évolution parallèle à celle de la sensibilisation à la tuberculine. L'existence même du pouvoir vaccinant des bacilles morts, aussi léger qu'il soit, ne saurait être mise en doute. CALMETTE et GUÉRIN (24) ont montré, sur la génisse, que l'injection préalable de bacilles chauffés peut modifier l'allure de l'infection tuberculeuse d'épreuve, « qui au lieu d'évoluer vers la granulie aiguë rapidement mortelle, devient une tuberculose chronique à marche lente ». Sans doute est-ce insuffisant. Et c'est peu de chose à côté des résultats du B. C. G. Mais l'intérêt théorique de cette constatation reste entier, et justifie de nouvelles recherches.

Mais aucun des innombrables procédés proposés jusqu'à ces dernières années n'a tenu ses promesses. Nous ne pouvons les passer en revue ici ⁽¹⁾. Presque tous ces procédés dérivent du principe suivant : « la cire tuberculeuse, étant difficilement attaquable par les ferments digestifs des phagocytes, constitue un obstacle très sérieux à la *résorption* des corps bacillaires, et par là aux essais de vaccination contre les poisons tuberculeux ». (CANTACUZÈNE 1905 (26)). Aussi est-ce à « dégraisser » le bacille et à lui faire perdre son acido-résistance que l'ingéniosité des chercheurs s'emploie. Louis MARTIN et VANDREMER (73) lavent les bacilles desséchés à l'éther sulfurique, H. VALÉE (120) à l'éther de pé-

(1) On en trouvera l'indication dans l'ouvrage de Calmette.

trôle, CANTACUZÈNE à l'alcool méthylique et à l'éther. Ils obtiennent ainsi des corps bacillaires toxiques et pyogènes. CANTACUZÈNE affaiblit ces propriétés par l'iodure de potassium, qui rend les corps bacillaires encore plus résorbables. LOEFFLER et MATSUDA favorisent la résorption du bacille en le traitant longtemps par la chaleur sèche.

UHLENHUT (116), en 1923, résume ces nombreux échecs et rappelle ses multiples essais. Il a cherché à « dégraisser » le bacille par une série de solvants ; il a réussi à lui faire perdre son acido-résistance, sa colorabilité par la méthode de GRAM, et à le rendre soluble dans l'antiformine. Par aucun de ces procédés il n'a pu obtenir d'accroissement évident de la résistance du lapin ou du cobaye. Après avoir inoculé jusqu'à 700 milligrammes de bacilles tués dans les veines de ces animaux, il conclut qu'il faut renoncer à obtenir une immunité par les bacilles morts. Et J. BORDET écrit peu après : « la résistance partielle (à l'infection tuberculeuse) est liée à la présence actuelle ou assez récente, dans l'organisme, de bacilles vivants » (17).

Or, en 1923, PETROFF et ses collaborateurs, encouragés par leurs essais de sensibilisation à la tuberculine, tentent des expériences de vaccination. Ils éprouvent la résistance de cobayes préparés par trois injections intra-péritonéales de 2 mgr. 5 de bacilles, pesés secs, tués par la chaleur. Ils obtiennent les survies moyennes suivantes (PETROFF et STEWART (80) :

Série	I vaccinés	208 jours	—	témoins	146
»	II	347	»	»	254
»	III	229	»	»	166
»	IV	171	»	»	150

Les bacilles « dégraissés » par la méthode de DREYER n'ont conféré aucune résistance.

ZINSSER, WARD et JENNINGS (133) par le même procédé, et après élimination sévère de tous les animaux dont la mort n'est pas directement imputable à la tuberculose, obtiennent les survies moyennes suivantes :

Série	I vaccinés	174 jours	—	témoins	114
»	II	209	»	»	146
»	III	229	»	»	176

Sans doute la survie des vaccinés est-elle brève. Elle atteint rarement 160 % de la survie des témoins. Mais cette faible différence s'observe régulièrement en faveur des vaccinés, dans sept séries consécutives. On peut donc l'attribuer à la vaccination.

Bruno LANGE (64) en 1927, confirme l'existence d'un accroissement de résistance, conféré par les bacilles tués par la chaleur ; cet accroissement a été net, mais léger, chez le cobaye ; à peine sensible chez le lapin, malgré l'emploi d'une souche d'épreuve peu virulente.

Mais des faits récents montrent qu'on peut améliorer le pouvoir protecteur des bacilles tués ;

1^o En général, la vaccination ne donne pas de meilleur résultat par voie veineuse que par voie sous-cutanée. COUTAUD montre en 1929 (28) que l'enrobage des bacilles vaccins dans l'huile d'olive (1 cgr. dans 2 cc.) donne une supériorité nette à la voie veineuse.

Après inoculation d'épreuve intraveineuse, les témoins meurent tous de tuberculose généralisée en 67 à 147 jours, et les vaccinés par huile sous-cutanée, en 143 à 277 jours. Les vaccinés par huile intraveineuse sont sacrifiés *indemnes* après 180 à 450 jours.

Cette vaccination par voie veineuse est une vaccination locale pulmonaire, car, dans une autre expérience, des vaccinés, sacrifiés après 800 jours, avaient des poumons normaux, mais une tuberculose localisée « chirurgicale » : rénale, testiculaire ou intestinale.

2^o BOQUET et LAÏPORTE (12) montrent que si, en général, les bacilles bovins (souche VALLÉE) tués par la chaleur ou le formol, inoculés en une ou deux fois sous la peau du cobaye ne donnent qu'une résistance très faible, il n'en est plus de même si on choisit comme vaccin une souche bovine très virulente, entretenue pendant plusieurs mois sous la forme lisse S ; ces bacilles, tués par la chaleur à 65°, donnent un gros abcès au point d'inoculation et une résistance importante. (Survie des témoins : 10-14 semaines ; des vaccinés : 20-32 semaines). Le choix de la souche, et peut-être le pouvoir pyogène de celle-ci, ont donc une grande influence.

3^o OPIE et FREUND (77) réalisent une très vaste expérience sur des lapins et mettent en évidence un sérieux pouvoir vaccinant des bacilles, tués par la chaleur, en choisissant une race de lapins particulièrement résistante (lapin Havane) et une dose d'épreuve minime (1/100.000 mgr). Ils préparent leurs animaux par une dizaine d'injections *intradermiques* de petites doses de bacilles (0,5 à 0,1 mgr), à intervalle de 5 à 7 jours. Citons quelques-uns de leurs résultats :

Tous les témoins sont morts de tuberculose généralisée entre 100 et 130 jours, mais plusieurs vaccinés ont été sacrifiés et trouvés indemnes au 600^e, 800^e et 1000^e jour.

Survie moyenne des témoins : 174 jours.

Survie moyenne des vaccinés : 478 jours.

Sacrifiés indemnes : 6 lapins sur 22.

Avec les mêmes doses répétées de B. C. G. vivant :

Survie moyenne des vaccinés : 447 jours.

Sacrifiés indemnes : 10 lapins sur 20.

Les auteurs concluent qu'ils obtiennent avec les bacilles morts une vaccination presque égale à celle qui est due au B. C. G. S'ils ajoutent du sérum de cheval chauffé aux bacilles tués, ils obtiennent une vaccination égale à celle due au B. C. G. Notons dès maintenant que le lapin, se sensibilisant peu à peu, répond aux dernières injections par une *inflammation locale* importante.

4^o MACHEBOEUF et DIERYCK, s'inspirant des recherches de BOQUET et NÈGRE sur le rôle respectif des substances acétono-solubles et alcoololo-solubles du bacille de Koch, tuent et dégraissent le bacille par l'acétone et l'éther à froid dans le but « d'enlever au bacille le plus possible de substances non antigéniques — et peut-être nuisibles à l'immunisation — tout en laissant aussi intacts que possible les complexes antigéniques » (70). Ils obtiennent ainsi des corps bacillaires qui ont conservé leur acido-résistance, et qui donnent au lapin et au cobaye une résistance très supérieure à celle qui est due aux bacilles simplement tués par chauffage à 70°, et inoculés de même en six injections intraveineuses.

Ces quelques exemples d'essais tout récents, et qui at-

tendent des confirmations nécessaires, montrent dans quelles voies très variées les chercheurs s'orientent actuellement.

Si nous ajoutons que les bacilles tués rendent les cobayes capables de présenter une série de phénomènes allergiques qui caractérisent le cobaye tuberculeux : phénomène de KOCH (BOQUET et NÈGRE, (16)) réaction allergique pleurale, oculaire, testiculaire (PETROFF et STEWART (79)), retard de la dissémination des bacilles d'épreuve (FREUND (40)) ; et qu'ils provoquent l'apparition dans les humeurs du cobaye et du lapin d'anticorps fixant le complément (PÉTROFF), et d'opsonines favorisant la phagocytose du bacille *in vitro* par les polynucléaires et les monocytes (J. HUGHES, (50)), nous aurons le droit de conclure que les bacilles tués par la chaleur provoquent dans l'organisme de ces animaux toutes les modifications qu'on attribue à l'action du bacille vivant virulent, à l'exception des lésions de tuberculose généralisée mortelle.

Cette conclusion s'impose avec plus de force encore depuis les expériences de Coulaud, que nous étudierons bientôt en détail. Mais il faut bien avouer que, jusqu'alors, elle pouvait paraître osée. Elle tenait compte des quelques faits positifs que nous avons longuement exposés, mais elle semblait oublier les nombreux échecs rencontrés au cours des essais de sensibilisation et de vaccination à l'aide de bacilles morts ; si nous n'avons pu dresser la liste complète de ces échecs, du moins devons nous tenter de les expliquer.

CHAPITRE III

CONCLUSION

SIGNIFICATION DES ÉCHECS RENCONTRÉS AU COURS DES ESSAIS DE SENSIBILISATION ET DE VACCINATION A L'AIDE DE BACILLES MORTS

Sans vouloir étudier séparément chacun de ces échecs, on peut se demander s'ils n'ont pas un certain nombre de causes communes.

La première raison de ces échecs est la conclusion même de cet historique, à savoir que :

dans les conditions habituelles d'expérimentation—suspension aqueuse de bacilles morts, doses de l'ordre du milligramme, inoculation unique, voie sous-cutanée, intramusculaire ou veineuse — la sensibilisation des cobayes et des lapins à la tuberculine est très inconstante, faible et de courte durée. Dans les mêmes conditions, l'accroissement de résistance à l'infection est nul ou très difficile à mettre en évidence.

Mais nous voyons, à ces échecs, d'autres raisons, qui tiennent à l'état d'esprit des premiers expérimentateurs :

1^o Ceux-ci ont voulu, par suite de considérations théoriques, rendre le bacille plus résorbable par les tissus, et dans ce but ils ont cherché à le « dégraisser ». Soit que la rapidité de résorption du bacille soit défavorable à la production de l'allergie (H. VALLÉE, BESSAU), soit que ces manipulations aient détruit les complexes antigéniques nécessaires (MACHEBOEUF), les résultats ont été plus mauvais qu'avec les bacilles simplement tués par la chaleur.

Souvent aussi on a pensé augmenter l'efficacité du bacille en l'introduisant par la voie veineuse. Nous savons aujourd'hui que, pour créer la sensibilité à la tuberculine tout au moins, c'est la voie la plus mauvaise.

2^o *Les expérimentateurs exigeaient autrefois de la vaccination beaucoup plus que maintenant.* Ils éprouvaient leurs animaux « vaccinés » avec des émulsions si virulentes que les différences de résistance s'effaçaient entre témoins et vaccinés. Ils ne tenaient guère compte des retards d'évolution de l'infection d'épreuve, et cherchaient à obtenir une vaccination totale. De là leur découragement.

L'histoire de leurs nombreux essais pourrait se résumer dans le dialogue suivant :

Un chercheur écrit : « J'ai vacciné dix cobayes avec telle préparation. Trois mois après l'épreuve virulente, j'ai sacrifié tous les animaux. Les témoins étaient tous tuberculeux, les vaccinés ne l'étaient pas ».

Un autre répond : « J'ai répété votre expérience. Si vous aviez attendu cinq mois pour sacrifier vos animaux, tous vos « vaccinés » seraient devenus tuberculeux ».

En matière de vaccination antituberculeuse *du lapin et du cobaye*, à l'aide de bacilles *vivants aussi bien que de bacilles morts*, deux attitudes extrêmes sont possibles. « Rien ne vaccine, dira l'un, puisque tous les « vaccinés » ont fini par mourir de tuberculose ». Et il renonce. « Tout vaccine, dira l'autre, depuis le bacille tuberculeux virulent qui tuera demain l'animal qu'il protège aujourd'hui contre les bacilles venus du dehors, jusqu'aux bacilles paratuberculeux saprophytes, qui retardent de quelques jours l'apparition de l'adénite voisine de l'inoculation d'épreuve, comme MOELLER, KLEMPERER, R. KOCH (55) l'ont montré ». Et il découvrira chaque jour quelque nouveau vaccin.

Mais un troisième chercheur méditera cette notion capitale, et solidement démontrée, à savoir qu'il est possible de modifier la résistance spécifique de l'organisme à la tuberculose. Il fera un choix parmi les innombrables vaccins proposés à son esprit critique ; il cherchera des critères de plus en plus délicats et sûrs pour mettre en évidence leur valeur ; il trouvera des souches bacillaires, des voies d'introduction,

des rythmes d'inoculation, des excipients, de plus en plus favorables. Il se rappellera enfin qu'un vaccin actif mais insuffisant pour le cobaye et le lapin peut se révéler très efficace pour les bovidés et pour l'homme. C'est le cas du B. C. G.

Les faits que nous avons rapportés dans ce premier chapitre justifient, nous semble-t-il, cette attitude et la poursuite des recherches sur l'effet allergisant des bacilles morts.

DEUXIÈME PARTIE

SENSIBILISATION ET VACCINATION PAR LES BACILLES TUBERCULEUX MORTS ENROBÉS DANS LES PARAFFINES

COULAUD, encouragé par les résultats qu'il avait obtenus chez le lapin par injection intraveineuse de bacilles morts en suspension dans l'huile d'olive et cherchant à créer une lésion importante, non plus pulmonaire, mais sous-cutanée, eut l'idée en 1921, d'enrober des bacilles morts dans la paraffine solide. Il pensait ainsi éviter les migrations à distance, dans les tissus sous-cutanés, qu'on avait souvent observées après les injections d'huile de paraffine.

Il obtint, chez le lapin et chez le cobaye une allergie très nette caractérisée par une très forte hypersensibilité à la tuberculine et une résistance importante à l'infection tuberculeuse. Il énonça ces faits en 1934 (29) et 1935 (30). Nous les étudierons en détail un peu plus loin, en même temps que les faits de même ordre que d'autres auteurs ne tardèrent pas à observer. SAENZ, en particulier, a grandement simplifié la technique en remplaçant la paraffine solide par l'huile de paraffine (98). Mais indiquons auparavant ces techniques.

TECHNIQUE EXPÉRIMENTALE

Rappelons que les huiles de paraffine (appelées encore huiles de vaseline), les vaselines, et les paraffines solides sont des *mélanges* de carbures d'hydrogène saturés, à poids moléculaire élevé : leur formule générale est C^uH^{2u+2} : à partir de

$n = 17$, les paraffines sont solides à la température ordinaire. Contrairement aux huiles végétales et animales, les paraffines ne sont ni solubilisées, ni brûlées par l'organisme.

TECHNIQUE DE COULAUD

COULAUD et nous-même avons employé au début différentes paraffines pour histologie, caractérisées par leurs points de fusion. Ces paraffines étant souvent des mélanges de paraffines solides de divers points de fusion, parfois additionnés d'huile de paraffine ou de cires, nous avons préféré n'opérer qu'avec la paraffine Merck pure, fondant aux environs de 42-44°. Et nous avons obtenu les mêmes résultats.

On stérilise à l'autoclave à 120°, pendant 30 minutes, des cultures de bacilles virulents (souche Vallée ou B¹) sur pomme de terre âgées de 6 à 10 semaines. On fait fondre la paraffine dans une coupe en porcelaine et on dépose à sa surface les bacilles tués, après les avoir pesés, humides. Puis on fait prudemment bouillir la paraffine pendant cinq minutes. Cette légère ébullition émulsionne admirablement les bacilles. On laisse refroidir ; on peut alors conserver longtemps cette émulsion : il suffit de la faire bouillir quelques secondes au moment de l'emploi, pour en assurer la stérilité, puis de la laisser refroidir jusqu'au voisinage de son point de fusion.

Les injections sont faites : chez le lapin, sous la peau de l'oreille ou de la tête ; chez le cobaye sous la peau de la nuque. Cette dernière localisation diminue les risques d'ouverture de l'abcès à la peau. Il faut employer une aiguille grosse et courte ; on la chauffe légèrement à la flamme ainsi que la seringue, avant chaque injection.

Nous injectons 0 cc. 5 de paraffine fondue, contenant en général 10 milligrammes de bacilles morts, pesés humides.

Nous avons coupé au microtome le bloc de paraffine bacillifère, et coloré la coupe au Ziehl. Les bacilles sont fortement acido-résistants, isolés les uns des autres et très régulièrement distribués.

TECHNIQUE DE SAENZ A L'HUILE DE PARAFFINE (99)

« Des voiles de cultures en milieu synthétique de Sauton, à 38°, âgés de dix semaines, sont chauffés à 120° pendant vingt minutes. On se débarrasse du liquide par filtration sur papier Chardin, puis on lave abondamment les bacilles avec de l'eau distillée. Les corps microbiens sont complètement desséchés dans de grandes boîtes de Petri ; on arrive à ce résultat après quelques jours d'étuve à 38°. Ces bacilles sont ensuite finement pulvérisés par broyage à sec dans des mortiers. Toutes ces opérations sont faites aseptiquement.

Pour la préparation de l'émulsion en huile de vaseline, on procède comme suit :

10 centigrammes de corps microbiens sont déposés dans un petit mortier stérile, puis soigneusement mélangés à 10 cc. d'huile de vaseline stérilisée qu'on laisse tomber goutte à goutte tandis qu'on brasse énergiquement le mélange.

En procédant ainsi, on obtient une émulsion d'apparence laiteuse et parfaitement homogène, contenant 1 centigramme de bacilles morts par centimètre cube. On a soin de la remuer de nouveau juste avant l'inoculation aux animaux.

Après cet enrobage, les bacilles n'ont pas perdu leur acido-résistance ».

Les bacilles encore humides sont également faciles à mettre en suspension dans l'huile de paraffine.

Nous envisagerons successivement l'hypersensibilité à la tuberculine et la résistance à l'infection tuberculeuse que confèrent les bacilles morts enrobés selon ces deux techniques.

CHAPITRE I

HYPERSENSIBILITÉ A LA TUBERCULINE

A. Lapins

a. BACILLES MORTS ENROBÉS DANS LA PARAFFINE SOLIDE.
— A un lapin neuf, injectons par voie veineuse 1 centimètre cube d'une dilution au vingtième de tuberculine brute dans l'eau physiologique. On sait que la variation de température enregistrée dans les 8 heures qui suivent ne dépasse pas 1°.

Trente jours après inoculation sous-cutanée de bacilles tuberculeux morts, (10 mgr. pesés humides) en suspension dans l'eau physiologique, la même épreuve donne une hyperthermie qui varie de 0°3 à 0°8.

Trente jours après inoculation sous-cutanée de la même dose de bacilles morts, enrobés dans la paraffine solide, la tuberculine provoque une ascension thermique de 2° à 2°5. Un lapin tuberculeux se comporte de même.

Telle est la première expérience de COULAUD, établissant l'accroissement du pouvoir sensibilisant des bacilles morts, sous l'influence de l'enrobage dans la paraffine.

L'hypersensibilité ainsi acquise dure plus d'une année. COULAUD note que l'abcès qui se forme au lieu d'inoculation peut aboutir à l'élimination de la paraffine et des bacilles, sans pour cela que l'hypersensibilité disparaisse. Il en est de même lorsque, ayant pratiqué l'injection sous la peau de l'oreille, il coupe l'oreille après l'établissement de l'allergie. « On est obligé d'admettre, dit-il, que des particules de paraffine ont été entraînés dans l'organisme loin du point où a été pratiquée l'injection » (30). Ailleurs il précise que « ce fait s'explique vraisemblablement par la migration, ganglionnaire

ou *pulmonaire*, de fragments microscopiques de paraffine » (31). Nous verrons plus loin que les examens anatomiques devaient confirmer cette hypothèse.

b. BACILLES MORTS EN SUSPENSION DANS L'HUILE DE PARAFFINE. — J. FREUND, CASALS et HOSMER (41), à la suite des travaux de Saenz sur l'huile de paraffine bacillifère chez le cobaye, ont sensibilisé le lapin avec des doses remarquablement faibles de bacilles morts (0 mgr. 1) et d'huile de paraffine (0 cc. 1), réparties en quatre points du tissu sous-cutané. Ils obtiennent une sensibilité nettement plus intense et plus durable qu'avec les mêmes bacilles en suspension physiologique, ou même qu'avec le B. C. G. vivant. Ils éprouvent les lapins par voie *intradermique* avec 0 cc. 2 de tuberculine au $\frac{1}{5}$. Ils recommandent, pour éviter la formation d'abcès paraffinés trop volumineux, de broyer au mortier les bacilles morts dans une goutte d'huile de paraffine, qu'ils émulsionnent ensuite dans de l'eau physiologique.

W. SCHAEFER nous a montré à l'Institut Pasteur des lapins préparés avec 10 milligrammes de bacilles morts enrobés dans l'huile de paraffine ; ils donnaient de très belles intradermo-réactions avec 0 cc. 1 de tuberculine au $\frac{1}{10}$. Or on sait que le derme du lapin, même tuberculeux, réagit faiblement à la tuberculine.

c. CAS PARTICULIER DES BACILLES AVIAIRES. LA TUBERCULOSE TYPE YERSIN « EN RACCOURCI ». — Pour Van DEINSE (126), la mort qui termine parfois brutalement la tuberculose du type Yersin, 12 à 25 jours après l'inoculation virulente, est due à l'allergie, qui apparaît à cette date. Et cet auteur a montré que si l'on prépare les animaux par des bacilles aviaires tués, enrobés dans la paraffine, en inoculation intramusculaire, la mort par Yersin survient du 6^e au 11^e jour après l'inoculation virulente, avec les mêmes lésions pulmonaires, hépatiques et spléniques que chez les lapins neufs. Il semble que les animaux préparés n'aient pas besoin du même délai que les témoins neufs pour que l'hypersensibilité mortelle se manifeste. Ce « Yersin en raccourci » (Van DEINSE (126)) ne s'observe que si on éprouve les lapins, avec 0,2 à 2 milligrammes de bacilles aviaires virulents, 6 ou 7

mois après leur préparation. Si on les éprouve seulement 38 jours après, les lapins ne meurent pas de tuberculose type Yersin, mais, beaucoup plus lentement (en 60 à 130 jours), avec des lésions de tuberculose nodulaire. Au début c'est l'immunité acquise qui joue ; plus tard elle est remplacée, ou masquée, par l'hypersensibilité.

d. ANTICORPS CIRCULANTS PRODUITS PAR L'INOCULATION DE PARAFFINES BACILLIFÈRES. — Peu de travaux ont été faits jusqu'ici à ce sujet ; nous n'en ferons qu'une brève mention. Dans quelques expériences personnelles, nous avons comparé les anticorps qui dévient le complément en présence de l'antigène méthylique de BOQUET et NÈGRE, chez des lapins préparés par une inoculation sous-cutanée unique, soit de bacilles morts dans l'eau (1 cgr.) soit de bacilles morts dans la paraffine solide (1 cgr.) soit de bacilles vivants virulents (0,002 mgr. de bovine Vallée). Nous avons constaté :

1^o Que les anticorps apparaissent chez les lapins « paraffinés » dès le 20^e jour, et seulement le 33^e chez les autres.

2^o Que le titre des anticorps était régulièrement plus élevé chez les paraffinés que chez les autres. A la 10^e semaine, dans une même expérience, nous avons obtenu une fixation du complément avec les dilutions suivantes de sérum :

pour les lapins + bacilles dans la paraffine : $\frac{1}{125}$

lapins + bacilles vivants : $\frac{1}{10}$

lapins + bacilles morts : $\frac{1}{5}$

Des broncho-pneumonies mortelles ont interrompu nos titrages. Les lapins qui avaient reçu les bacilles vivants sont morts de tuberculose pulmonaire confluente 10 mois plus tard.

Huit mois après inoculation de bacilles morts, J. FREUND, CASALS et HOSMER (41) ont observé, chez leurs lapins préparés avec l'huile de paraffine, un titre d'anticorps huit fois plus élevé que chez les témoins préparés avec une suspension dans l'eau physiologique.

B. Cobayes

§ 1. Sensibilité dermique

A. *Bacilles enrobés dans la paraffine solide.* — Dès 1934 COULAUD annonçait que les cobayes préparés avec la paraffine solide bacillifère, et éprouvés un mois après, dans le derme, par 0,05 de tuberculine diluée à 1/50, répondaient par une réaction nécrotique, et que cette sensibilité pouvait durer plus d'une année.

Nous avons repris avec cet auteur l'étude de l'apparition et de l'intensité de cette sensibilité dermique à la tuberculine, chez des cobayes préparés par inoculation, sous la peau de la nuque, de 0 cc. 5 de paraffine fondant à 42°-44°, contenant 10 et parfois 20 milligrammes de bacilles tués par la chaleur, pesés humides, ce qui représente environ 2 ou 4 milligrammes des mêmes bacilles pesés secs. (Souches bovines Vallée ou B¹).

Le tableau ci-contre donne les résultats des intradermo-réactions de quatre séries d'animaux qui ont été éprouvés à la tuberculine au moins deux fois au cours du premier mois, et d'une série intéressante par la précocité de l'épreuve. On est frappé par la régularité des résultats et par l'apparition précoce des réactions nécrotiques.

Légende :

- +++ réaction en coïcarde, ecchymotique et nécrotique.
- ++ Papule bien circonscrite, dure, non nécrotique ou à nécrose punctiforme.
- + Rougeur et épaississement diffus de 10 à 20 millimètres de diamètre.
- . Cobaye mort, sacrifié ou utilisé pour une épreuve virulente.

Les réactions nécrotiques atteignent souvent une intensité extraordinaire : la coïcarde œdémateuse et congestive a un diamètre de 25 millimètres ; elle est centrée par une zone tantôt pâle, anémique, tantôt hémorragique, de 15 millimètres de diamètre, qui, de la 24^e à la 72^e heure, forme une escarre, laquelle tombe en 5 à 8 jours, laissant une cicatrice indélébile.

Date et dose de l'inoculation Bac. posés humides	0,1 cc. de tuberculine à 1/10			0,1cc.de tuber- culine à 1/100		Observations
	Jour 8	Jour 11-13	Jour 16	Jour 20-23	Jour 30	
29.I.37 - 10 mgr.						
1		++		+++	+++	
2		++		+++	+++	
3		++		+++	+++	
4		++		+++	+++	
5		o		o	o	Très mou. Mort au j.40
10.II.37 - 10 mgr.						
1		+		+++		
2		+		+++		
3		++		+++		
4		+		+++		
5		+		+++		
6		+		+++		
31.III.37 - 20 mgr.						
cage 131 1		+++		++	+	Tbculine int.périt.0,2cc. 1 ^{er} j. 22
2		+		+	+++	
3		+++		+++	.	Mort au j. 31
4		++		o	.	Mort au j. 26 (bronchop.)
5		++		?	++	
6		+		+	+++	
7		++		+++	+++	
cage 132 1		+		++	+++	
2		+		++	+++	
3		o		+	.	Mort au J. 16 (bronchop.)
4		+		++	+++	
cage 151 1		o		.	.	Mort au j. 18 Abscès pulm.
2		++		++	+++	
3		+		++	+++	
4		+++		+++	+++	
5		?		.	.	Mou.Mort au j. 23
4.V.37 - 10 mgr.						
cage 269 1			++	++	+++	
2			+++	++	+	Mou. +++ au J. 42
3			+++	+++	+++	
4			+++	o	++	+++ id
cage 271 1			+++	+++	++	+++ id
2			+++	.	+	
3			+++	++	+++	
4			+++	+++	+++	
5			+++	+	+++	
6			+	.	.	Mort au j. 20
cage 273 1			+++	+++	.	
2			+++	+++	.	
3			+++	+++	.	
4			+++	+++	.	
5			+++	++	.	
6			+++	+	.	
cage 275 1			++	.	+	+++ au j. 42
2			+++	.	.	Mort au j. 18
3			+++	.	+++	
4			+++	.	+++	
5			+++	.	++	
6			++	.	+++	
2.X.37 - 10 mgr.						
cage 178 1	+					Mort au j. 12
2	o					Mort au j. 12
3	+					.
4	+					.
5	++					.
cage 260 1	+					.
2	+					.
3	+					.
4	o					Mort au j. 14

Afin de pouvoir comparer les résultats obtenus avec la paraffine solide à ceux que SAENZ obtient avec l'huile de paraffine, nous avons colligé nos observations sous une forme analogue à la sienne. (Voir son tableau plus loin).

Des observations faites sur sept séries, totalisant 88 animaux, nous pouvons tirer les chiffres suivants, qui donnent une idée approximative de l'évolution de l'hypersensibilité. Les dates indiquées sont celles des injections de tuberculine ; nous lisons la réaction 48 heures après l'injection. Nous avons obtenu avec 0 cc. 1 de tuberculine au dixième des réactions :

Le 8 ^e jour : nettement positives (+ ou ++)	77 %
négatives	23 %
Le 13 ^e jour : nécrotiques	12 %
nettement positives	73 %
négatives	15 %
Le 16 ^e jour : nécrotiques	80 %
nettement positives	20 %

A partir du vingtième jour, nous n'employons que de la tuberculine *diluée au centième*. Et nous observons des réactions :

Du 20 ^e au 23 ^e jour : nécrotiques	50 %
nettement positives	40 %
faibles	10 %
Du 30 ^e au 42 ^e jour : nécrotiques	90 %

Les réactions négatives observées au 8^e et au 13^e jour ne sont pas des échecs de la méthode : les animaux à réaction négative étaient « mous ». Ils sont pour la plupart morts dans les cinq jours qui suivirent l'épreuve tuberculinique, comme on le voit sur nos tableaux. L'apparition de l'hypersensibilité cutanée, en 8 à 15 jours, est en effet si régulière chez les animaux en bon état qu'une intradermo-réaction négative a une valeur pronostique très sombre : en général l'animal mourra en peu de jours (de péritonite à pneumocoques, ou de pasteurellose) ou bien il survivra, mais, sacrifié, il présentera à l'autopsie une broncho-pneumonie subaiguë d'un ou des deux sommets. Cette broncho-pneumonie guérit probablement dans quelques cas, et laisse alors la sensibilité à

la tuberculine reparaître. *Nous ne saurions trop insister sur la sévérité avec laquelle on doit choisir les animaux destinés à subir les épreuves tuberculiniques.* Ils doivent peser plus de 400 grammes (PETROFF), et être en excellent état —, sinon les résultats deviennent extrêmement irréguliers et décevants. Les animaux doivent rester une quinzaine de jours en quarantaine, afin d'éliminer ceux qui supportent mal le séjour en cage, ou sont en incubation de quelque maladie. La plupart de nos animaux étaient de pelage blanc ; mais les réactions cutanées sont si intenses qu'elles se voient en général admirablement même sur les cobayes marrons ou noirs.

Nous avons éliminé, en calculant ces pourcentages, trois séries d'animaux :

1^o Deux séries entières qui moururent d'épidémies dans les trois semaines qui suivirent l'inoculation, et dans lesquelles les réactions positives furent exceptionnelles.

2^o Une série de cobayes, préparés par une dose de 10 milligrammes de bacilles, pesés après dessiccation à l'étuve (dose cinq fois plus forte que dans les séries précédentes). Ceux-ci se sont moins bien mélangés à la paraffine chaude que les bacilles directement prélevés sur la pomme de terre après une demi-heure d'autoclave. L'émulsion semblait moins homogène et nous a donné des résultats moins réguliers. En particulier 3 cobayes sur 18 ont eu une réaction nécrotique *dès le 9^e jour* ; les abcès d'inoculation étaient particulièrement volumineux, et les métastases pulmonaires très importantes et précoces.

Evolution de l'hypersensibilité à longue échéance. Nous avons peu de données personnelles à ce sujet, la plupart de nos animaux ayant été sacrifiés ou éprouvés avec des bacilles virulents.

A partir du 60^e jour, plusieurs cobayes avaient des réactions papuleuses avec 0 cc. 1 de tuberculine brute diluée à 1/1000 ou même à 1/10.000. J. BRETEY et M^{lle} O. GERHARDT ont vu que la sensibilité pouvait augmenter jusqu'au 4^e mois après l'inoculation. Des titrages après le sixième mois n'ont pas été faits. Nous savons seulement que COULAUD a obtenu des réactions nécrotiques très intenses avec 0 cc. 05 de tuberculine au 1/50, *vingt mois* après l'inoculation.

Comparaison avec les témoins préparés par les suspensions dans l'eau physiologique. Cette comparaison est difficile à faire à cause des grandes irrégularités de la sensibilisation obtenue à l'aide de ces suspensions, lorsqu'elles sont inoculées par voie musculaire ou sous-cutanée, même si les intradermo-réactions sont faites dans le même laboratoire, avec la même tuberculine.

C'est ainsi que SAENZ a des résultats presque entièrement négatifs, par inoculation sous-cutanée ou intramusculaire (98).

18 cobayes inoculés avec 1 à 10 milligrammes de bacilles tués, pesés secs, et en suspension dans l'eau physiologique, « sont demeurés négatifs, à part deux cobayes qui réagirent à la tuberculine par une faible papule ».

On doit se demander, pour peu vraisemblable que cela paraisse, si les émulsions aqueuses de bacilles tués et desséchés à l'étuve ne sont pas moins sensibilisantes que les émulsions de bacilles frais, simplement tués à l'autoclave, telles que les emploient BOQUET et BRETEY, dont voici en effet les données (10) :

10 milligrammes pesés humides, de bacilles Vallée morts, en suspension physiologique, par injection sous-cutanée unique, donnent une intradermo-réaction à la tuberculine (0,1 cc. au 1/10) :

négative : le 6^e jour ;

faiblement positive : le 8^e jour ;

nettement positive : le 12^e jour ;

nécrotique : le 30^e jour ;

et par voie péritonéale une réaction :

nettement positive : le 7^e jour ;

nécrotique : le 25^e jour.

« Ces caractères persistent 6 à 8 semaines ; à la fin du cinquième mois les animaux ne répondent plus que par une infiltration œdémateuse qui se résorbe sans se nécroser ».

Nous-même, opérant sur 11 cobayes particulièrement bien portants, pesant 500 grammes, au pelage blanc, avons obtenu une réaction nécrotique chez deux animaux seulement. Aucun animal n'a réagi à la tuberculine au 1/100. Les petites séries relatées dans le tableau suivant ne per-

mettent aucune conclusion ferme, mais semblent confirmer les conclusions de BRANCH et CUFF, selon lesquels l'hyper-sensibilité est liée à la production de pus au point d'inoculation. Elles montrent aussi que, dans l'inoculation sous-cutanée, l'élimination du pus et des bacilles est sans doute la cause de l'extinction de la sensibilité.

Inoculations	0,1 cc. Tuberculine 1/10					Pub 1/100	Observations
	Jour 8	Jour 13	Jour 21	Jour 34	Jour 41	Jour 41	
I.M. 5 mgr. secs							
1		o	o	.			Sacr. j. 23. Pas de pus
2		o	o	.			id
I.M. 25 mgr. hum.							
1	o	+	?	+++	+++	?	S.j. 43. Fistule refermée
2	o	+	+	+	+	o	id Nodule + Pus o
3	+	++	+++	.			S.j. 23. Pus
4	?	++	+	?			Meurt j.40 Pus. Grosseur
5	+	.					S.j. 9 Pus
SC. 25 mgr hum.							
1	o	+	?	+	+	o	Nodule fistulisé du 1.12
2	?	+	o	?	?	o	id au 3.30
3	o	+	?	?	?	o	id
4	+	?	o	o	.	.	Cachectique.
BACILLES MORTS EN EAU PHYSIOLOGIQUE							

L'enrobage dans la paraffine permet — si l'on s'en rapporte à nos résultats au cours du mois qui suit l'inoculation, et aux résultats de COULAUD pour ce qui est de la durée de la sensibilisation — de conférer au cobaye une sensibilité *beaucoup plus régulièrement acquise, plus intense et plus durable*, que la suspension en eau physiologique. Les réactions nécrotiques apparaissent beaucoup plus rapidement ; mais nos chiffres ne nous permettent pas de dire si la période antéallergique a été raccourcie, comme c'est le cas avec la paraffine liquide, d'après les chiffres de SAENZ.

La possibilité de garder longtemps ces animaux très fortement sensibilisés, en excellent état, permet de les employer, mieux que des cobayes tuberculeux, pour le titrage *in vivo* des tuberculines (W. SCHAEFER).

B. *Bacilles enrobés dans l'huile de paraffine.* — SAENZ a montré l'existence des mêmes phénomènes de sensibilisation à la tuberculine, après inoculation de bacilles tués enrobés

dans l'huile de paraffine (98) ⁽¹⁾. Avec 10 milligrammes de bacilles tués, pesés après dessiccation à l'étuve, et mis en suspension dans 1 cc. d'huile de paraffine, il a obtenu les résultats qu'il résume dans le tableau suivant (100) :

VOIE d'inoculation	RÉSULTATS DES INTRADERMO-TUBERCULINATIONS
Intramusculaire.	Cinquième jour : négatives, 32 p. 100 ; faiblement positives, papule oedémateuse, 68 p. 100. Huitième jour : négatives, 6 p. 100 ; papules, 35 p. 100 ; franchement positives, 59 p. 100. Treizième jour : franchement positives, 71 p. 100 ; nécrotiques, 29 p. 100. Seizième jour : franchement positives, 42 p. 100 ; nécrotiques, 58 p. 100. A partir du vingtième jour et jusqu'au quatre cent cinquantième jour : réactions nécrotiques ou hémorragiques. Dans ce groupe, il faut signaler 11 à 15 p. 100 de réactions hémorragiques. particulièrement intenses qui, par leurs caractères, rappellent le phénomène de Sanarelli-Shwartzman.
Intrapulmonaire.	Cinquième jour : négatives, 12 p. 100 ; faiblement positives, 58 p. 100 ; papule nette, 30 p. 100. Huitième jour : papule, 63 p. 100 ; nettement positives, 14 p. 100 ; papule à centre nécrotique, 23 p. 100. Treizième au quinzième jour : nettement positives, 10 p. 100 ; nécrotiques, 64 p. 100 ; hémorragiques, 26 p. 100. A partir du vingtième et jusqu'au deux cent cinquantième jour : nécrotiques ou hémorragiques.
Intratesticulaire.	Cinquième jour : négatives, 10 p. 100, faiblement positives, 66 p. 100 ; papules nettes, 24 p. 100. Huitième jour : faiblement positives, 43 p. 100 ; franchement positives, 23 p. 100 ; papule à centre nécrotique, 34 p. 100. Treizième au quinzième jour : franchement positives, 5 p. 100 ; nécrotiques, 45 p. 100 ; hémorragiques, 50 p. 100. Vingtième au cent quatre-vingtième jour : nécrotiques ou hémorragiques.

Ces chiffres sont très semblables à ceux que nous avons obtenus avec la paraffine solide.

A son tableau, A. SAENZ ajoute les précisions suivantes (99) : « Dix milligrammes de corps microbiens nous ont paru être la dose optima. Des quantités supérieures ne semblent influencer ni la durée de l'état antéallergique, ni l'intensité de la réaction.. L'allergie augmente d'intensité du 20^e au 70^e jour ; à partir de cette date elle reste stationnaire pendant plus d'une année ; ...des lots de cobayes montraient entre le 50^e et le 276^e jour une *réaction nécrotique* ⁽²⁾ à 1/10.000 de

(1) Dès 1932 Mrs. Thomson (115) avait incidemment relaté qu'elle obtenait une sensibilisation bien meilleure, avec des bacilles paratuberculeux et vivants, en enrobant ceux-ci dans l'huile de paraffine qu'en les suspendant dans l'eau physiologique. Elle avait noté également les lésions pulmonaires que la suspension huileuse provoque, même en inoculation sous-cutanée.

(2) C'est nous qui soulignons, en rappelant que pour Branch et Cuff la dilution limite à laquelle répondent des cobayes sensibilisés par des bacilles morts en sus-

tuberculine brute (c'est-à-dire 0,1 cc. de tuberculine au 1/1000)... Nous avons réussi à sensibiliser nettement le cobaye avec des doses de bacilles allant de 1/10 à 1/100 de milligramme. Bien entendu, dans ce cas, la période antéallergique est plus longue, et l'intensité de la réaction moindre. »

Enfin, SAENZ a observé chez ses cobayes l'existence de deux autres phénomènes allergiques : un phénomène de Koch typique, nécrotique, est provoqué, par l'inoculation intradermique de 1/10 de milligramme de bacilles vivants : un « nodule accéléré de surinfection », — tel que le décrivent A. KRAUSE et PETERS (59), A. BOQUET, chez le cobaye tuberculeux, — suit l'inoculation intradermique d'une dose de 1/10.000 de milligramme de bacilles vivants.

Et l'auteur conclut : « L'enrobage dans l'huile de vaseline détermine une augmentation de l'allergie qui se traduit par un raccourcissement de la période anté-allergique et par une augmentation de l'intensité de la réaction.

« Le degré de cette allergie est au moins aussi intense que celui produit par les bacilles tuberculeux vivants et virulents.

« La durée de la période anté-allergique et l'intensité de l'allergie varient légèrement avec la voie d'inoculation empruntée. L'allergie apparaît dès le cinquième jour chez les animaux inoculés par voie intratesticulaire ou pulmonaire, et entre le sixième et le huitième jour chez les cobayes préparés par voie sous-cutanée avec des bacilles morts enrobés dans l'huile de vaseline.

« Arrivée à son acmé, l'allergie demeure invariable au moins pendant quatre cent cinquante jours, durant lesquels la réaction tuberculinique s'est maintenue nécrotique ou hémorragique ».

Ajoutons que, d'après nos essais, le volume de l'huile de paraffine peut facilement être réduit à 0,1 cc. sans changer en rien la date d'apparition ni l'intensité de la réaction cutanée à la tuberculine.

pension aqueuse est de 1/1000. C'est également la limite de la sensibilité des cobayes préparés avec 1 milligramme de B. C. G. vivant. (Boquet et Bretey.) Ces animaux répondent d'ailleurs rarement par une réaction nécrotique à l'injection de 0 cc. 1 de la dilution au dixième.

§ 2. Sensibilité générale

L'inoculation intrapéritonéale de 0 cc. 05 de tuberculine brute (soit 1 cc. de tuberculine diluée au 1/20) donne aux cobayes préparés par les paraffines bacillifères depuis 2 mois une réaction thermique exactement superposable à celle qu'on observe chez des cobayes tuberculeux.

Exemple :	0 heure	38°5
	2 h. 30	40°
	5 heures	40°2
	8 heures	40°3
	24 heures	38°7

Mais l'inoculation péritonéale d'une dose dix fois plus forte, qui, par voie péritonéale ou sous-cutanée, tue régulièrement le cobaye tuberculeux (c'est-à-dire atteint de tuberculose viscérale), *ne tue pas* le cobaye rendu hypersensible par les bacilles morts en suspension dans la paraffine. Cette dose (0 cc. 5 de tuberculine brute, soit 2 cc. 5 d'une dilution au 1/5) donne cependant à de tels cobayes des variations thermiques violentes, qui ne suivent plus un cycle régulier comme plus haut, mais où l'hyperthermie et l'hypothermie semblent tour à tour l'emporter.

	Cobaye I	Cobaye II
Exemple :		
0 heure	38.5	38.5
20 minutes	37.9	37.6
2 h. 30	37.8	37.9
5 heures	38.1	39.1
8 heures	39.1	40.1
24 heures	36.3	39.9
34 heures	37.8	39.1

Cinq animaux ont présenté une courbe analogue ; aucun n'est mort.

Pendant tout ce drame thermique l'animal est resté mou, peu réagissant et très dyspnéique ; mais il a triomphé de ce choc. SAENZ n'a pu obtenir la mort de ses cobayes allergiques que lorsqu'ils avaient reçu l'huile bacillifère par la voie trachéale, et avaient de grosses lésions pulmonaires. 0 cc. 5 de tuberculine inoculée sous la peau les tuait en 8 à 24 heures, avec une congestion intense des poumons.

Ce fait nous laisse supposer que chez l'animal gravement tuberculeux, les réactions focales au niveau des viscères lésés jouent un rôle important, dans le mécanisme de la mort par intoxication tuberculinique. C'est d'ailleurs l'opinion de BESSAU et de A. KRAUSE.

§ 3. *Sensibilité du péritoine aux corps bacillaires*

Nous étudierons plus loin l'aspect immunitaire des phénomènes de réinfection intrapéritonéale, le seul observé lorsqu'on emploie de faibles doses de bacilles. Mais l'état d'allergie comporte une autre face, la face « hypersensibilité » mise en évidence par de fortes doses de bacilles. Il est même possible, comme E. RIST, M. LÉON KINDBERG et J. ROLLAND (88) l'ont montré, de mettre en évidence simultanément, chez le même animal, les deux faces de l'allergie, et ceci en employant une dose moyenne, un centigramme environ. Voici en effet, les conclusions qu'on peut tirer des travaux de BAIL (1, 2), complétés sur de nombreux points par MANWARRING et BRONFENBRENNER, par E. RIST et ses collaborateurs, par E. BURNET (21), et plus récemment par L. U. GARDNER (43), LAPORTE et GAIGINSKY (66).

Chez le cobaye neuf, l'inoculation intrapéritonéale d'une forte dose de bacilles (de un à dix centigrammes) provoque une péritonite tuberculeuse, — caractérisée par une importante éruption de granulations sur toute la séreuse, et un épiploon considérablement hypertrophié et caséeux — et la mort de l'animal dans des délais variant de une semaine à plusieurs mois. Le liquide dans lequel les bacilles sont mis en suspension est résorbé très rapidement, en dix heures environ, même s'il est très abondant. La réaction cytologique est caractérisée par un afflux de polynucléaires phagocytant les bacilles et suivi très rapidement — dès la 24^e heure, — par une monocytose prédominante. Les bacilles présents dans l'exsudat diminuent rapidement de nombre dès les premières heures, mais ne disparaissent pas totalement.

Chez le cobaye allergique, la même inoculation provoque souvent la mort (mort aiguë de BAIL) en 8 à 24 heures, parfois en 48 heures. A l'autopsie on trouve un abondant liquide

séro-hémorragique. Si l'animal survit, il ne se développe pas de granulations sur toute la séreuse. Seul, en général, le grand épiploon devient le siège de lésions tuberculeuses, importantes d'ailleurs. Un abondant exsudat à polynucléaires se développe dans les 24 premières heures, et ne disparaît qu'au 4^e jour. Les macrophages n'y apparaissent que discrètement et tardivement, les lymphocytes au contraire deviennent prédominants dès le 3^e jour (nous ne nous occupons ici que de la formule des tout premiers jours). Enfin les bacilles diminuent de nombre au point de disparaître souvent totalement du liquide ; mais on les retrouve en abondance dans des flocs fibrino-leucocytaires et sur l'épiploon.

Nous n'avons pas étudié systématiquement cette forme de réinfection chez nos animaux rendus allergiques par des bacilles tués enrobés dans la paraffine. Cependant nous avons entretenu pendant quelques mois une petite écurie de cobayes sensibilisés ⁽¹⁾, chez qui nous provoquions des péritonites allergiques, à l'aide de *bacilles tués*. Nous voulions étudier le pouvoir du liquide de péritonite, recueilli à la pipette sans sacrifier le cobaye donneur, sur l'évolution de la tuberculose expérimentale. Disons tout de suite que ces liquides n'ont eu aucun pouvoir curateur ; leur pouvoir retardant fut minime.

Mais, à cette occasion nous avons observé quelques faits que nous résumerons brièvement.

PÉRITONITES ALLERGIQUES A RÉPÉTITION

A condition d'employer des doses relativement faibles (1 à 10 milligrammes de bacilles tués, pesés humides), on peut provoquer en quelques mois chez le même animal une série de péritonites allergiques non mortelles. C'est ainsi qu'un cobaye qui avait reçu le 15 décembre une inoculation de paraffine bacillifère, a reçu en 90 jours *sept* inoculations péritonéales, à des doses variant de 1 à 13 milligrammes. La ponction nous a chaque fois permis de récolter de 3 à 15

(1) Par 1 centigramme de bacilles bovins Vallée tués, pesés humides, et enrobés dans 0,5 cc. de paraffine.

centimètres cubes de liquide très visqueux, gris jaunâtre, riche en fibrine. Nous ne réinoculons nos animaux que lorsque leur intradermo-réaction était redevenue franchement positive ou nécrotique à la tuberculine diluée au centième.

En effet, *la péritonite s'accompagne d'une désensibilisation momentanée*. Avec de petites doses de bacilles (2 milligrammes) la désensibilisation complète, vis-à-vis de l'intradermo-réaction, est décelable dans les heures qui suivent immédiatement l'inoculation péritonéale. La réaction redevient légèrement positive, après 48 heures, et nécrotique, au bout de 5 à 8 jours. Les grosses doses (10 milligrammes) peuvent inhiber totalement la réaction pendant 8 à 15 jours, malgré le retour très rapide de la température à la normale.

La *température* montait de 40° à 20° dans les cinq heures qui suivaient l'inoculation, pour retomber à la normale en 24 heures.

La « *mort aiguë* » de BAIL, survenant dans les 10 heures, ou la mort plus lente, survenant en 24 heures, avec épanchement séro-hémorragique, *a été rarement observée*, exactement 8 fois sur 42 inoculations péritonéales. Elle ne nous a pas semblé prévisible. Elle n'est survenue qu'une fois après une première inoculation (dose inoculée 2 mgr. 5 - 50 jours après préparation par la paraffine) ; et sept fois après une deuxième, troisième ou cinquième inoculation (doses employées : 5 milligrammes). Il n'est donc pas impossible que les inoculations successives aient stimulé la sensibilité aux bacilles morts ; en effet, PETROFF a montré que la voie péritonéale est une des meilleures pour sensibiliser l'animal à l'aide de bacilles morts. Cependant nous ferons remarquer que les doses qui ont tué nos cobayes (5 milligrammes) sont beaucoup plus faibles que celles qu'emploient BRANCH et CUFF pour tuer les leurs par la même voie (100 à 200 milligrammes pesés secs, c'est-à-dire 500 à 1000 pesés humides) ; c'est peut être parce que leurs animaux avaient été sensibilisés par voie péritonéale, à l'aide de 3 milligrammes de bacilles tués pesés secs en *suspension aqueuse*, alors que les nôtres avaient reçu des bacilles tués sous la peau, mais en suspension dans la paraffine.

Cependant, nous le répétons, beaucoup d'autres périto-

nites allergiques, provoquées par des doses de 5 à 10 milligrammes et nous ayant permis de récolter 10 à 15 cc. de liquide, n'ont pas tué l'animal. Il est vrai qu'à ces doses-là, même l'animal gravement tuberculeux peut résister.

Quant aux *lésions* observées dans le péritoine, elles consistaient principalement en adhérences et en nodules caséux ou purulents, surtout nombreux sur le grand épiploon. Il est intéressant de remarquer que le cobaye fortement allergique n'est pas capable d'empêcher les bacilles même morts de créer des abcès dans son péritoine. Une étude comparative entre les lésions péritonéales dues aux bacilles morts chez le cobaye neuf et chez le cobaye allergique n'a pas été faite.

Nous avons parfois étudié l'*aspect cytologique* du liquide. Il se rapprochait beaucoup des formules décrites chez le cobaye tuberculeux. Voici un exemple de formule :

Exp. : Cobaye préparé le 20 janvier. Inoculation péritonéale le 23 février : 2 milligrammes, poids humide, de bacilles tués dans 5 cc. d'eau physiologique. Le 24, la ponction ramène 10 cc. de liquide visqueux, grisâtre, qui contenait, pour 100 éléments :

Polynucléaires	88
Monocytes	3
Lymphocytes	8

Le 25 février, le liquide contenait :

Polynucléaires	73
Monocytes	11
Lymphocytes	16

Le même jour, un autre cobaye, préparé et éprouvé de la même façon, n'a fait aucun épanchement péritonéal, sans raison apparente. (Il était cependant plus « mou » que ses voisins). La formule de son liquide péritonéal se rapprochait de celle des cobayes neufs inoculés pour la première fois par voie péritonéale :

24 heures	Polynucléaires	66
	Monocytes	33
	Lymphocytes	1
48 heures	Polynucléaires	67
	Monocytes	28
	Lymphocytes	5

Quant aux bacilles de Koch, on en voit extrêmement peu dans le liquide d'épanchement. La plupart sont à l'intérieur des polynucléaires, ceux-ci sont parfois eux-mêmes phagocytés par un macrophage. Mais on trouve beaucoup de bacilles — libres ou intercellulaires — dans les flocons fibrino-leucocytaires. Leur aspect est parfois « poussiéreux » (RIST, KINDBERG et ROLLAND), mais souvent aussi nullement modifié.

Ajoutons enfin que les liquides d'épanchement n'ont jamais dévié le complément en présence de l'antigène méthyl-lique de BOQUET et NÈGRE.

Si nous avons voulu rappeler ces faits quelque peu épars et qui mériteraient une étude plus systématique, c'est parce qu'ils montrent l'analogie entre l'allergie produite par les bacilles morts et celle produite par les bacilles virulents.

C. Essais comparatifs a l'aide d'autres huiles et d'autres germes tués

Nous ne ferons ici que résumer les conclusions de A. SAENZ qui a fait de nombreux essais comparatifs (101).

L'enrobage dans l'huile de paraffine de bacilles aviaires et paratuberculeux tués, augmente nettement le pouvoir sensibilisant de ces corps bacillaires. Mais la sensibilité obtenue — mesurée avec la tuberculine des bacilles bovins et humains — est moins grande que celle qu'on obtient avec des bacilles bovins tués. Le degré d'allergie est donc en rapport avec la qualité de l'antigène employé, comme on devait s'y attendre.

L'huile de vaseline exerce une action qui n'est pas limitée aux acido-résistants. COULAUD avait montré que, par l'enrobage des bacilles morveux morts dans la paraffine, on peut sensibiliser le cobaye à la mailéine, ce que ne font pas les mêmes bacilles morts en suspension aqueuse (31). A. VELU, ZOTTNER et SARTHOU (127) ont sensibilisé de grands animaux à la mélitine, avec *Brucella abortus* tué, et enrobé dans le mélange : huile de paraffine 3, lanoline 1. SAENZ a constaté

les mêmes phénomènes chez le cobaye, avec *Brucella melitensis*, *Brucella abortus*, le bacille morveux et le coccobacille de MALASSEZ et VIGNAL (101), en employant comme excipient l'huile de paraffine sans lanoline.

Huiles diverses. Le même auteur (102) a constaté que les huiles d'olive et d'arachide, employées comme excipient, déterminent un accroissement de la précocité et de l'intensité des réactions tuberculiniques ; mais cet accroissement est beaucoup moins prononcé qu'avec l'huile de paraffine. Les réactions nécrotiques apparaissent plus tardivement, et disparaissent plus rapidement (COULAUD, *in* thèse Neumann).

Le jaune d'œuf (SAENZ) n'a aucune influence. La lanoline enfin, additionnée d'huile ou d'eau, n'a, pour SAENZ, aucune influence immédiate. L'augmentation de la sensibilité n'apparaît qu'au sixième mois, malgré d'énormes abcès locaux. Pour HENSEL (48) cependant, la lanoline a un remarquable effet adjuvant et stimulant, ainsi que la vaseline. Il est vrai que cet auteur n'éprouve ses animaux à la tuberculine que 6 semaines après l'inoculation. De plus il n'observe jamais d'abcès local, ce qui laisse supposer que les conditions de l'expérience ne sont pas les mêmes.

(1) Voir J. Neumann. *Thèse* Paris, 1937.

CHAPITRE II

VACCINATION

INTRODUCTION

Pour qui étudie la tuberculose du cobaye et du lapin, la résistance de l'homme à cette infection est un sujet quotidien d'émerveillement. L'enfant triomphe presque toujours d'une infection légère, même si le bacille en cause est capable, à forte dose, de tuer un autre enfant. L'adulte, exposé à de nombreuses contaminations, y répond bien rarement par quelque manifestation pathologique. Bien que la plupart des habitants des villes hébergent des bacilles vivants dans quelque cicatrice pulmonaire ou ganglionnaire, on peut dire, que, le plus souvent, la primo-infection tuberculeuse de l'homme guérit, et l'immunise ⁽¹⁾ vis-à-vis des surinfections. Il en est de même des bovidés : « une seule infection, même relativement massive, peut guérir, et confère à l'organisme une résistance marquée à l'égard des nouvelles infections » disent CALMETTE et GUÉRIN dès 1905 (22).

Au contraire, le lapin ou le cobaye sont incapables de guérir : c'est-à-dire qu'un bacille mortel pour un cobaye, par inoculation sous-cutanée, est mortel, à plus ou moins longue échéance, pour tous les cobayes, quelle que soit la dose inoculée, et quels que soient l'âge, le poids, l'état de santé générale de l'animal. Les lésions qu'un tel bacille crée

(1) En pur langage immunologique, il n'y a immunité que si l'animal résiste aux surinfections alors qu'il n'héberge plus de parasites. Mais l'usage a prévalu de parler « d'immunité antituberculeuse », bien qu'il s'agisse d'un état de résistance relative, toujours lié jusqu'ici à la présence de parasites, vivants ou morts, dans l'organisme. Si ces germes vaccins sont vivants, il s'agit d'un état de « prémunition », pour employer le terme proposé par Ed. Sergent, Parrot et Donatien (*Bull. de la Soc. de Path. exot.*, 17 janv. 1924).

sont réinoculables à de nouveaux cobayes, qui mourront également de tuberculose généralisée. Ce germe est dit *virulent*, pour le cobaye. Il en est de même pour le lapin. Remarquons seulement que si tous les bacilles bovins et humains virulents pour le lapin le sont également pour le cobaye, la réciproque n'est pas vraie. Le bacille humain est exceptionnellement virulent pour le lapin.

Puisque ces animaux meurent d'une primo-infection virulente, il ne peut être question de les immuniser à l'aide d'une pareille infection, et on doit chercher à les vacciner à l'aide de bacilles tués ou avirulents ; c'est d'ailleurs le seul procédé applicable ensuite sans danger à l'homme ou aux bovidés.

Or, les essais de vaccination des petits animaux par les bacilles tués ou avirulents sont des plus décevants. La survie des vaccinés atteint rarement le double de la survie des témoins, et les vaccinés meurent avec les mêmes lésions que les témoins. Quelques essais ont été exceptionnellement heureux. Nous avons déjà cité ceux de COULAUD et de OPIE. Nous relaterons encore ceux de Ch. DUPREZ (35). Cet auteur vaccine des cobayes par *soixante* inoculations hebdomadaires de 0 mgr. 001 de B. C. G. vivant. Ces animaux, éprouvés par 0 mgr. 001 de bacilles virulents — tuant les témoins en 4 à 6 mois — ont été sacrifiés et trouvés indemnes de lésions macroscopiques, 14 mois après l'épreuve. L'auteur dit avoir obtenu ainsi une *immunité absolue*. Or, chez ceux des vaccinés qui avaient une intradermo-réaction à la tuberculine négative au moment de l'épreuve — et qui ont d'ailleurs résisté aussi bien que les autres — il a vu cette réaction devenir positive au bout de six mois. On doit donc craindre que les bacilles d'épreuve ne soient pas tous morts.

C'est cette crainte qui nous interdit, *à priori*, de parler d'*immunité absolue* en tuberculose. En effet, nous savons d'une part que les bacilles d'épreuve, même bien tolérés, restent longtemps vivants au sein de l'organisme, que celui-ci soit naturellement réfractaire ou qu'il ait acquis une résistance spécifique même très solide. (C'est le cas des bovidés vaccinés avec le B. C. G.). D'autre part nous savons que les immunités acquises artificiellement sont le plus souvent tem-

poraires ⁽¹⁾. On devra donc toujours craindre une évolution tardive de l'infection d'épreuve, et particulièrement chez les petits animaux qui n'ont aucune résistance naturelle. On ne pourra l'éviter qu'en entretenant la résistance par des vaccinations périodiques, ainsi que le recommandent CALMETTE et GUÉRIN.

Ces réserves n'enlèvent rien à la valeur des expériences que nous citons plus haut et qui démontrent que, même chez les cobayes et les lapins, la recherche d'une résistance très appréciable n'est pas une vaine entreprise.

Il n'en reste pas moins que ces animaux s'immunisent très difficilement, et qu'un procédé qui accroît peu leur résistance peut accroître considérablement celle des bovidés, et sans doute celle de l'homme. Il est probable, par exemple, que le bacille vaccin de CALMETTE et GUÉRIN n'aurait pas attiré l'attention de ses auteurs, s'ils ne l'avaient expérimenté d'emblée sur les bovidés. Ceci montre qu'un accroissement de résistance même faible, chez les petits animaux, mérite d'être décelé et étudié. Mais, pour cela, on ne peut songer à employer les tests habituels de vaccination, qui consistent à rechercher dans quelle proportion les animaux vaccinés résistent à une infection d'épreuve ; ou de quelle dose d'épreuve maxima ils triomphent. On est obligé de recourir à d'autres méthodes, qui mesurent seulement des *retards* dans l'évolution de la tuberculose d'épreuve : leurs résultats sont beaucoup plus difficiles à exprimer numériquement. Ces méthodes sont les suivantes :

1^o Comparaison des lésions : tous les animaux éprouvés sont sacrifiés au moment où l'on présume que les témoins ont des lésions généralisées. Cette méthode fait souvent ressortir un contraste saisissant entre vaccinés et témoins, mais ne donne aucune idée du retard que la vaccination apporte à l'évolution de l'infection d'épreuve.

2^o Comparaison des survies. Cette méthode est meilleure, mais elle est infiniment plus longue et risque d'être troublée, par des maladies intercurrentes mortelles. Pour mettre les

(1) Et particulièrement dans les maladies à prémunition. Celle-ci est « co-infectieuse » (Ed. Sergent et Perrot) et disparaît fatalement avec le germe vaccinant.

retards d'évolution mieux en évidence, on est obligé de s'en tenir à des doses d'épreuve très faibles, ce qui allonge l'expérience et permet aux différences individuelles de résistance de jouer un certain rôle. Mais cette méthode permet seule de déceler les cas éventuels de guérison, comme les cas à évolution très tardive. L'expérience à très longue échéance d'OPIE nous montre un fait très intéressant : les témoins sont tous morts de tuberculose, 100 à 300 jours après l'épreuve, et les deux tiers des vaccinés entre 200 et 450 jours. Mais plusieurs vaccinés ont été sacrifiés et trouvés indemnes ou peu atteints, 650 ou 1000 jours après l'épreuve. Ainsi savons-nous que la *vaccination est très inégalement efficace* ; elle peut être considérable chez quelques lapins, et presque nulle chez d'autres.

Pour avoir toute sa valeur, cette méthode doit être associée à la précédente.

3^o Méthode de Bruno LANGE et LYDTIN (61, 62) : elle consiste à noter la date d'apparition du ganglion régional. Elle est pratique par sa rapidité, et donne parfois des résultats très nets. Mais elle nous semble très sujette à caution. Ses auteurs eux-mêmes signalent des cas d'adénopathie accélérée « paradoxale », c'est-à-dire plus précoce chez les vaccinés que chez les témoins, et JENSEN (51) signale de nombreux cas d'apparition accélérée du ganglion, chez des vaccinés qui ont cependant survécu beaucoup plus longtemps que les témoins.

4^o Etude de la dispersion des bacilles (KRAUSE (57), WILLIS (129), BOQUET (8)). Elle a le grand avantage de mettre en évidence un des mécanismes de l'immunité : le blocage des bacilles au point d'inoculation, puis dans le ganglion régional. Cette méthode consiste à étudier — par réinoculation ou par culture — la date d'arrivée des bacilles d'épreuve dans le ganglion régional et dans la rate.

Ces deux dernières méthodes, associées à la simple observation de la lésion locale de surinfection, ont permis à différents auteurs (RÖMER, KRAUSE et WILLIS, A. BOQUET, etc.) de montrer que les infections *virulentes* sont celles qui confèrent la résistance la plus importante, et que plus l'infection est virulente, meilleure est la résistance (Bruno LANGE et LYDTIN) (62).

Toutes ces méthodes, qui se complètent mutuellement, ont été employées pour éprouver la résistance des animaux préparés avec des bacilles morts enrobés dans la paraffine.

EXPÉRIENCES DE SURINFECTION

Les expériences que nous relaterons ici sont encore très disparates et incomplètes. Elles ne permettent pas de tracer la courbe de la résistance aux surinfections dans les mois qui suivent l'inoculation « vaccinante ». De plus il eût été intéressant de connaître, pour chaque essai, le sort d'un lot de témoins préparés avec des bacilles tués, en suspension aqueuse. Cette comparaison n'a été faite que dans une seule des expériences de A. SAENZ. Jamais enfin, un lot de témoins vaccinés par le B. C. G. n'a été mis en parallèle avec les animaux préparés par les mélanges paraffinés.

Or une conclusion légitime, touchant la valeur comparée de deux modes de vaccination, ne peut provenir que d'une expérience où les deux groupes de vaccinés sont éprouvés par la *même* émulsion virulente. Dans ces conditions, malgré l'impression favorable qui se dégage des essais que nous allons rapporter, nous nous abstiendrons d'affirmer que les bacilles tués, inoculés en suspension dans les paraffines, vaccinent aussi bien ou mieux que le B. C. G., ou que les bacilles morts en suspension aqueuse. Pour ces derniers cependant, rappelons que l'étude des protocoles publiés par de nombreux auteurs, (BRANCH et CUFF, SELTER, A. BERG (5), BOQUET et LAPORTE (12)), permet de conclure que les résultats obtenus par une seule ou un petit nombre d'inoculations préparantes sont très voisins de zéro. Seules les injections très nombreuses (OPIE et FREUND (77)), ou encore l'injection de souches bovines spéciales, très virulentes, lisses et isolées depuis peu de temps (BOQUET et LAPORTE (12)) donnent une résistance appréciable. Rappelons aussi que tous ces auteurs ont éprouvé leurs animaux dans les deux mois qui ont suivi la vaccination et n'ont donné aucun renseignement sur la durée de la résistance observée. Quant au B. C. G., nous savons que la résistance qu'il confère au lapin et au cobaye est décelable

seulement pendant les 6 mois qui suivent son administration et qu'elle est, elle aussi, toute relative, contrairement à celle, solide et beaucoup plus durable, que ce vaccin confère aux bovidés.

A. Lapins

Seuls les lapins préparés par de la paraffine solide ont été éprouvés, et la méthode de la survie a été seule employée. E. COULAUD a bien voulu nous confier les protocoles des expériences suivantes, qui semblent montrer que la résistance aux bâcilles virulents ne dure que quelques mois après l'injection paraffinée. C'est d'ailleurs une résistance toute relative d'où ne résulte qu'un retard dans l'évolution de la tuberculose d'épreuve. *Ce retard peut cependant assurer aux vaccinés une survie double ou même quintuple de celle des témoins.*

Les lapins ont tous été préparés par injection sous la peau de la tête de 0 cc. 5 de paraffine, contenant 1 centigramme de bacilles tués par la chaleur, et éprouvés par la voie veineuse.

EXP. I. Épreuve virulente 40 jours après. Bovine Vallée 1/50 milligramme.

4 témoins meurent avec une tuberculose pulmonaire nodulaire confluyente en 95, 102, 104 et 124 jours. Survie moyenne : 106 jours.

3 vaccinés meurent respectivement en : 210 jours (tuberculose pulmonaire discrète) 214 jours (tuberculose pulmonaire de moyenne intensité) et 314 jours (tuberculose massive). Survie moyenne : 245 jours.

Etant donnée l'importance de l'inoculation d'épreuve, avec une souche de moyenne virulence, la vaccination se montre nettement efficace. Mais l'efficacité en est plus évidente si l'on emploie une souche peu virulente, à grosse dose :

EXP. II. Épreuve virulente 40 jours après préparation, 1 milligramme de bacilles A. Y.

4 témoins meurent de tuberculose pulmonaire miliaire à grains plus ou moins gros en 61, 61, 66 et 82 jours.

Des 4 vaccinés, l'un meurt en 210 jours avec des lésions pulmo-

naires discrètes, 3 sont *sacrifiés* 305 jours après l'épreuve : l'un d'eux a des poumons normaux, les autres respectivement deux et quatre petits nodules pulmonaires.

Si l'on s'éloigne de l'inoculation vaccinnante, la résistance disparaît, du moins vis-à-vis d'une forte dose d'épreuve.

EXP. III. Épreuve 140 jours après préparation. 1/50 mgr. de bovine Vallée.

6 témoins meurent de tuberculose pulmonaire confluyente, en 107, 160, 167, 167, 169 et 180 jours.

Des 6 vaccinés, un meurt sans lésions pulmonaires au bout de 575 jours. Il serait imprudent d'en tenir compte, puisque les 5 autres sont morts de tuberculose après 143, 150, 160, 163 et 182 jours.

Ajoutons cependant que la paraffine injectée trop chaude avait été éliminée assez rapidement, avant l'injection d'épreuve.

EXP. IV. Épreuve virulente 10 mois après préparation. 1/1000 milligramme bovine C¹.

3 témoins sont morts de tuberculose généralisée en 105, 120 et 130 jours. Les 10 vaccinés ont été, 14 jours avant l'épreuve virulente, éprouvés par voie intraveineuse par 1 cc de tuberculine diluée au 1/50. Cette épreuve permet de les diviser en deux groupes :

4 vaccinés n'ont pas réagi à la tuberculine (élévation de température de 0°2 à 0°8). Ils sont morts de tuberculose généralisée en 60, 98, 180 et 180 jours.

6 vaccinés ont réagi à la tuberculine (par une élévation de température de 1°4 à 3°). Ils sont morts de tuberculose généralisée après 60, 98, 100, 108, 110 et 110 jours.

Ici, les témoins et les vaccinés, qu'ils réagissent ou non à la tuberculine, se comportent de même vis-à-vis d'une épreuve virulente.

B. Cobayes

I. ÉPREUVE VIRULENTE PAR VOIE SOUS-CUTANÉE

Paraffine solide bacillifère. Expériences de E. COULAUD.

Les animaux ont été préparés par injection, sous la peau de la nuque, de 0 cc. 5 de paraffine contenant 1 centigramme de bacilles tués (pesés humides), et éprouvés par voie sous-cutanée.

EXP. I. — Épreuve 33 jours après préparation 1/1000 milligramme bovine Vallée.

6 témoins meurent de tuberculose généralisée après une survie moyenne de 160 jours.

6 vaccinés sont encore vivants au bout de 270 jours, mais ils ont des adénopathies qui laissent prévoir leur mort par tuberculose, survenue d'ailleurs peu après.

EXP. II. — Épreuve 116 jours après préparation. 1/50 milligramme bovine Vallée.

7 témoins meurent de tuberculose en 29, 34, 35, 37, 37, 44 et 49 jours. Survie moyenne 38 jours.

5 vaccinés, dont l'intradermo-réaction à la tuberculine était positive, meurent de tuberculose en 75, 88, 100, 120 et 160 jours. Survie moyenne 108 jours.

Un vacciné à réaction négative est mort en 55 jours.

Huile de paraffine bacillifère. Expériences de A. SAENZ (1)

Les animaux ont été préparés par injection dans les muscles de la cuisse de 1 cc. d'huile de paraffine contenant 10 milligrammes de bacilles bovins (souche VALLÉE) tués par la chaleur et pesés secs. Mais dans une expérience préalable, A. SAENZ recherche la résistance conférée par une dose

(1) Nous empruntons tout ce qui va suivre à l'important mémoire de cet auteur : Ann. de l'Institut Pasteur, 1938, t. 60, p. 58.

de 10 milligrammes des mêmes bacilles, en suspension dans l'eau physiologique.

Exp. I. — 5 semaines après préparation par des bacilles en eau physiologique, épreuve par 1/10.000 de milligramme de bovine Vallée par voie sous-cutanée.

A ce moment l'intradermo-réaction à la tuberculine au 1/10 ne donne qu'une simple papule.

7 témoins meurent en 3 à 5 mois.

8 vaccinés meurent dans le même délai, deux meurent en 7 mois.

4 vaccinés sacrifiés entre 60 et 75 jours, ont les mêmes lésions que les témoins.

« Cette expérience, conclut A. SAENZ, ne fait que confirmer les faits déjà bien connus, d'après lesquels le pouvoir immunisant des bacilles morts est médiocre. »

L'expérience suivante, bien qu'elle n'ait pas été faite dans les mêmes conditions de temps, ni avec la même émulsion virulente, permet de penser que l'huile bacillifère confère au cobaye une résistance beaucoup plus nette que la suspension aqueuse.

Exp. II. — 40 jours après préparation avec des bacilles en huile de paraffine, épreuve par 1/10.000 de milligramme de bovine Vallée par voie sous-cutanée.

A ce moment l'intradermo-réaction donne une belle écarde de 25 à 30 millimètres de diamètre.

Tous les témoins sont morts au bout de 5 mois de tuberculose généralisée.

3 vaccinés meurent entre 6 et 8 mois, de *maladie intercurrente*, avec un foie et une rate d'apparence normale.

8 vaccinés avaient été sacrifiés le 60^e jour ; ils ne montraient que des lésions ganglionnaires, alors que les témoins avaient déjà les viscères atteints.

Les expériences suivantes ne permettent pas d'étudier la survie, mais des sacrifices échelonnés montrent l'extension des lésions.

Exp. III. — 42 jours après préparation, par l'huile bacillifère ; épreuve *intradermique* avec 1/10 ou 1/100 milligramme de bovine Vallée.

Témoins : tuberculose généralisée au 60^e jour.

Vaccinés : premières granulations sur la rate au 114^e jour.

Exp. IV. — Mêmes conditions. Mais dose d'épreuve très faible : 1/10.000 de milligramme.

Témoins : rate atteinte dès le 77^e jour.

Vaccinés : rate atteinte à partir du 197^e jour.

Etude de la dispersion des bacilles d'épreuve. Particulièrement intéressants sont les essais où SAENZ, reprenant la méthode de KRAUSE et WILLIS et de A. BOQUET, montre que la dispersion des germes de surinfection est nettement retardée chez les animaux préparés avec des bacilles morts en suspension dans l'huile de paraffine, comme ces auteurs l'avaient montré pour les animaux tuberculeux ou préparés par un bacille avirulent *vivant* ; et qu'elle l'est beaucoup moins chez les animaux préparés seulement avec des bacilles morts en suspension aqueuse.

Exp. V. — On prépare deux lots de cobayes, l'un avec 10 milligrammes de bacilles morts dans l'huile de vaseline, l'autre avec 10 milligrammes des mêmes bacilles dans l'eau. Au bout de 58 jours, on leur inocule 1/10.000 de milligramme de bacilles virulents sous la peau de la cuisse. On sacrifie un animal chaque jour et on ense-mence séparément, sur Loewenstein, d'une part les ganglions inguinaux et sous-lombaires, d'autre part la rate. On constate alors que les ganglions contiennent des bacilles cultivables :

— chez les témoins non préparés : au 3^e jour ;

— chez les préparés avec la suspension aqueuse : au 7^e jour ;

— chez les préparés avec la suspension huileuse : au 9^e jour ;

et que la rate contient des bacilles cultivables :

— chez les témoins : au 7^e jour ;

— chez les préparés avec la suspension aqueuse : au 12^e jour ;

— chez les préparés avec la suspension huileuse : pas avant le 27^e jour.

L'inoculation d'épreuve intradermique donne des résultats encore plus nets.

Exp. VI. — Mêmes conditions. Pas de lot de cobayes préparés avec une émulsion aqueuse.

Les ganglions contiennent des bacilles :

— chez les témoins : dès le 6^e jour (pas de cobaye sacrifié avant cette date) ;

— chez les vaccinés : au 9^e jour.

La rate contient des bacilles ;

— chez les témoins : le 13^e jour ;

— chez les vaccinés : pas avant le 39^e jour.

Les bacilles d'épreuve subissent donc chez les vaccinés un premier blocage momentané au niveau de la peau, et un second, peut-être plus important, au niveau des ganglions régionaux. Ainsi est mis en évidence un des moyens d'action de l'organisme vacciné sur le bacille.

Ces essais montrent, conclut SAENZ, d'accord avec COULAUD, que la préparation des cobayes par des bacilles morts enrobés dans l'huile de paraffine, « se traduit par un retard appréciable de la dispersion des germes de surinfection, mais ne suffit pas pour conférer à l'animal une vaccination totale, même si on emploie des doses minimales d'une souche de virulence moyenne ».

Vaseline bacillifère. Expérience de G. HENSEL

HENSEL vient de publier (49), une expérience particulièrement frappante. Il prépare ses cobayes par inoculation sous-cutanée de 1 cc. de lanoline hydratée ou de vaseline enrobant 5 milligrammes (pesés humides) de bacilles tués par la chaleur (65° pendant 2 heures). Il les éprouve par voie intradermique avec 1/100.000. de milligramme de bacilles virulents. Il sacrifie tous les animaux 90 jours après l'épreuve :

Les 10 témoins ont des ganglions inguinaux gros et caséeux.

9 sur 10 ont une rate gravement tuberculeuse.

1 sur 10 a une rate normale.

2 vaccinés avec la lanoline 18 mois auparavant ont une rate et des ganglions normaux.

9 vaccinés avec la lanoline 10 mois auparavant ont une rate et des ganglions normaux.

2 vaccinés avec la vaseline 18 mois auparavant ont une rate et des ganglions normaux.

Sur 8 vaccinés avec la vaseline 10 mois auparavant, 7 ont une rate et des ganglions normaux.

1 a une rate et des ganglions tuberculeux.

Tous les animaux vaccinés sauf le dernier avaient, la veille de l'épreuve, une intradermo-réaction « ++ ou +++ ». Le dernier ne réagissait que par « + ». Il avait éliminé une partie de l'abcès formé au point d'inoculation. *Les autres n'ont pas fait d'abcès au point d'inoculation du vaccin*, contrairement à ce que COULAUD, SAENZ et nous même avons vu régulièrement. HENSEL a retrouvé le vaccin « *inchangé* » et simplement enkysté. Ce fait, dont nous prenons connaissance au moment de mettre sous presse, serait de nature, s'il est confirmé, à modifier notre interprétation du mécanisme d'action de l'excipient. Insistons pour le moment sur l'importance de la résistance à une infection d'épreuve pratiquée 10 et 18 mois après la vaccination par des bacilles morts.

II. ÉPREUVE VIRULENTE PAR VOIE PÉRITONÉALE

§ 1. — *Observation de COULAUD.* — L'idée de mettre en évidence la résistance aux bacilles virulents en pratiquant l'inoculation d'épreuve dans le péritoine, est née à la suite de l'observation suivante, due à COULAUD, NEUMANN et Suzanne TROCMÉ (33). Ces auteurs étudiaient la cytologie de la réaction péritonéale à la surinfection, chez des cobayes préparés par une inoculation de paraffine bacillifère. La réaction péritonéale à une primo-inoculation étant bien connue, il fut jugé inutile de l'étudier à nouveau chez des cobayes neufs, témoins. Les vingt cobayes, préparés un mois auparavant, reçurent 1/4 ou, le plus souvent, 1/100 de milligramme de bacilles tuberculeux vivants, dans le péritoine. Leur exsudat fut ponctionné à l'aide d'une pipette, à plusieurs reprises, et les animaux remis dans leur cage. Or, lorsque certains d'entre eux moururent, 35 à 40 jours plus tard, on fut fort étonné de ne trouver dans leur abdomen aucune lésion tuberculeuse. Les autres moururent de maladie intercurrente, — ou furent sacrifiés — de 35 à 236 jours après l'inoculation péritonéale. *Aucun ne présenta de lésion tuberculeuse visible à l'œil nu.* Trois souches différentes avaient été employées pour éprouver les cobayes, répartis en trois séries.

Cette expérience, faute de témoins qui n'étaient pas né-

cessaires pour celle qu'on se proposait primitivement de réaliser, n'était sans doute pas strictement démonstrative. Elle n'en était pas moins extrêmement suggestive. Les auteurs en concluaient que « la *vaccination complète* de l'organisme des mammifères vis-à-vis du bacille tuberculeux n'est pas plus irréalisable que la vaccination vis-à-vis d'autres germes », mais que « dans le problème de la vaccination antituberculeuse, la *voie de réinfection* joue un rôle de premier plan » ; en effet, chez les cobayes préparés par le même procédé, l'inoculation virulente par la voie sous-cutanée ne mettait en évidence qu'un retard, fort appréciable il est vrai, dans l'évolution de l'infection d'épreuve.

Que, chez un animal ayant acquis une certaine résistance, les différents tissus gardent des sensibilités variées à l'infection, n'est pas pour nous étonner. A. BOQUET l'avait démontré même pour les cobayes préparés par une inoculation très virulente : au moment où la peau devient presque totalement réfractaire à la surinfection, le testicule (8), et plus encore les méninges (11), restent presque aussi sensibles que si l'animal était neuf. Il s'agissait là de sensibilité *locale* à la surinfection, mais il est logique d'imaginer qu'une meilleure résistance locale inhibe mieux la dispersion des germes et se traduise par une généralisation des lésions plus tardive, sinon nulle.

Quoiqu'il en soit, les conditions de la première expérience de COULAUD méritaient d'être mieux précisées, et c'est pourquoi, avec cet auteur, nous avons tenté de la reproduire. Mais les séries d'essais que nous allons relater ne nous ont pas donné de résultats aussi nets.

§ 2. *Première série de contrôles.* — Dans cette série nous avons voulu :

1^o Eprouver les cobayes avec une souche de virulence assez forte. Nous avons choisi pour cela une souche bovine B1 — celle-là même qui avait servi à préparer ce lot d'animaux ; à la dose de 0 mgr. 001, par inoculation intrapéritonéale, la culture sur pomme de terre, âgée de 20 à 30 jours, a donné à nos témoins une tuberculose généralisée typique, en 60 à 90 jours. Pour plusieurs, cette tuberculose fut vraisembla-

blement la cause de la mort, survenue dans les mêmes délais.

2^o Mettre en évidence la date d'apparition de l'immunité. Pour cela nous avons éprouvé nos animaux 24, 35, 49, 63 et 69 jours après leur préparation. Disons tout de suite que cette date n'a pu être précisée, pour deux raisons : d'une part les nombreuses morts dues à des infections intercurrentes (pneumonie; pseudo-tuberculose, pasteurellose surtout) ne nous ont pas permis de faire durer l'épreuve aussi longtemps dans chaque série ; d'autre part, l'immunité n'a été absolue dans aucune série, et les différences de résistance, d'une série à l'autre, n'ont pas été nettement tranchées.

Il nous a semblé qu'on pouvait assez bien caractériser le degré d'évolution de la maladie chez nos animaux en précisant seulement l'état du grand épiploon et de la rate ⁽¹⁾. Nous avons adopté les notations suivantes :

Pour l'épiploon :

+ = épiploon déroulable, mais légèrement épaissi, ou présentant quelques rares granulations miliaires.

++ = épiploon dont le bord inférieur seul est épaissi et non déroulable.

+++ = épiploon épaissi dans son ensemble, formant un cordon non déroulable, le long de l'estomac.

++++ et +++++ = le même cordon, mais beaucoup plus gros ; son diamètre peut atteindre celui d'un crayon ordinaire.

Pour la rate :

+ = rares et fines granulations.

++ = granulations plus grosses, nodulaires.

+++ = nombreux nodules.

×1 = volume normal.

×3 = volume environ triple du volume normal.

? = rate légèrement plus granuleuse que d'habitude, « chagrinée ».

(1) Il arrive parfois que l'épiploon et la rate étant normaux, on trouve des lésions ailleurs : dans les ganglions rétrosternaux ou trachéo-bronchiques par exemple. Ce ne fut jamais le cas dans ce premier groupe d'expériences, où « rate et épiploon normaux » signifient « cobaye indemne de toute lésion tuberculeuse macroscopique ».

Nous avons souvent sacrifié un témoin lorsqu'un « vacciné » mourait ; et, chaque fois qu'un vacciné mourait sans lésion apparente, nous avons réinoculé le produit du broyage de son épiploon et de sa rate à plusieurs cobayes, et parfois ensemencé quelques milieux de LOEWENSTEIN.

Expérience. 26 cobayes de 400 grammes environ reçoivent le 4 mai 1937, sous la peau de la nuque, 0 cc. 5 de paraffine fondant à 42-44°, contenant *un centigramme* de bacilles bovins B 1, tués, recueillis sur pomme de terre, et pesés humides après essorage entre deux papiers filtre. Le 19 mai, l'intradermo-réaction à la tuberculine au dixième (0 cc. 1) est nécrotique. Quelques jours avant chaque épreuve virulente, on s'assure que la réaction à la tuberculine *au centième* est elle-même nécrotique chez tous les animaux de la série à éprouver.

Cinq séries de 5 ou 6 cobayes ainsi préparés reçoivent, ainsi qu'un nombre égal de témoins, 0 mgr. 001, de bacilles bovins B 1, par inoculation intrapéritonéale, après des délais variant de 24 à 69 jours. Les résultats sont schématisés dans les tableaux suivants, que nous commenterons rapidement.

SÉRIE I. — *Eprouvés 24 jours après préparation.* La mortalité par pasteurellose a été grave chez les « vaccinés », qu'on n'a pu conserver plus de 95 jours. L'épiploon et la rate sont toujours atteints, mais le contraste est frappant entre les quelques granulations ou le léger épaississement de l'épiploon toujours déroulable des vaccinés, et l'énorme corde épiploïque des témoins. Les rates sont toujours moins riches en nodules chez les vaccinés.

SÉRIE II. — *Eprouvés 35 jours après préparation.* Même contraste entre les épiploons des vaccinés et les témoins. Le dernier des vaccinés, sacrifié alors que les témoins sont morts de tuberculose généralisée, a *un épiploon normal à l'œil nu*, une rate seulement suspecte ; au point qu'une réinoculation est jugée nécessaire pour pouvoir affirmer que l'animal a bien reçu les bacilles d'épreuve. Cette réinoculation tuberculeuse deux cobayes. Les *lésions* de ce vacciné sont d'ailleurs assez particulières : un ganglion épiploïque sous-pylorique, trouvé légèrement hypertrophié, ne montre à la coupe qu'un

I EPROUVES 24 JOURS APRES PREPARATION 0, 001 mgr. B ₁ de 18 jours								
Jours	11	12	17	29	31	36	82	95
Vaccinés	meurt		meurt	meurt	meurt	meurt		meurt
Epiploon	o		+	+	+	++		+
Rate	o		+ x 1	+ x 3	+ x 2	+++ x 6 Tub. et Pseudot.		+ x 8
Témoins	sacrifié	meurt	sacrifié	sacrifié	sacrifié	sacrifié	meurt	sacrifié
Epiploon	+	+	+++	+++	+++	++++	+	++++
Rate	o	o	+++ x 3	+++ x 4	+++ x 3	+++ x 4	++ x 2	+++ x 6

II EPROUVES 35 JOURS APRES PREPARATION 0, 001 mgr. B ₁ de 30 jours								
Jours	5	21	26	48	61	71	83	93
Vaccinés	meurt	meurt	meurt			meurt		sacrifié
Epiploon	o	++	+			+		o
Rate	o	+ x 2	+ x 2			++ x 3 Foie +		? Reinoc.+ Ganglion Pylor. +
Témoins	meurt	sacrifié	sacrifié	meurt	meurt		meurt	
Epiploon	o	+++	+++	+	+++		++++	
Rate	o	+++ x 4	+++ x 4	+++ x 6	+++ x 6 Tub. général.		++ x 4 Tub. général.	

amas de polynucléaires, occupant toute l'aire ganglionnaire jusqu'à la capsule très épaissie, et riche en bâtonnets acido-résistants, mais aucune lésion tuberculeuse typique. Quant à la rate, ses 3 petites granulations suspectes se montrent formées exclusivement par de petites plages épithélioïdes.

SÉRIE III. — *Eprouvés 49 jours après préparation.* A partir de cette série, on commence à voir, chez les vaccinés, des *épiploons macroscopiquement normaux*, parfois accompagnés d'ailleurs de rates suspectes ou nettement tuberculeuses. Dans cette série III, on a procédé deux fois à la réinoculation de l'épiploon et de la rate de vaccinés apparemment indemnes. Dans le premier cas, il s'agissait d'un vacciné mort sans raison apparente le 32^e jour, sans aucune lésion tuberculeuse macroscopique. Rate et épiploon, broyés simultanément ont donné des colonies sur LOEWENSTEIN, et tuberculisé les deux cobayes inoculés avec le broyat. Dans le second cas, celui du vacciné sacrifié le 81^e jour, l'épiploon était strictement normal, la rate ne présentant qu'une granulation qui, au microscope, était très atypique : abcès à polynucléaires non altérés, sans bacilles, entouré d'une étroite couronne épithélioïde. Epiploon et rate mélangés ont cependant tuberculisé les trois cobayes inoculés.

SÉRIE IV. — *Eprouvés 63 jours après préparation.* Cette série nous a donné des résultats très troublants. L'inoculation d'épreuve a été probablement plus bénigne que pour les autres séries (culture de 36 jours, trop âgée) puisque les trois témoins qui ont certainement reçu des bacilles, morts ou sacrifiés au 48^e et 165^e jour, avaient des lésions épiploïques très minimales. Mais il est curieux que, précisément dans cette série, et *seulement dans cette série*, deux autres témoins soient restés indemnes, après 107 et 148 jours.

L'inoculation a-t-elle été faite dans l'intestin, par erreur de technique ? ou bien le péritoine tolérerait-il de très petites doses de bacilles même virulents ? Jusqu'à plus ample information, il est prudent d'admettre la première de ces explications, classique d'ailleurs (Maurice NICOLLE, RIST, ROLLAND et KINDBERG). Pour un seul de ces témoins in-

III EPROUVES 49 JOURS APRES PREPARATION
0, 001 mgr. B₁ de 25 jours

Jours	14	16	21	23	27	28	32	64	69	81
Vaccinés				meurt			meurt	meurt	meurt	sacrifié
Epiploon				o			o	o	o	o
Rate				Pseudot.			o	?	++ x 1	?
				Loew +			Loew + Reinoc +			Reinoc +
Témoins	meurt	meurt	meurt		meurt	meurt				sacrifié
Epiploon	o	o	o		+	+				+++
Rate	Pseudot.	o	Pseudot.		+ x 1	Pseudot.				+ x 2

IV. EPROUVES 63 JOURS APRES PREPARATION
0, 001 mgr. B₁ de 36 jours

Jours	15	48	67	107	148	165	165
Vaccinés		meurt	meurt		meurt	sacrifié	sacrifié
Epiploon		dévoré	o		pneumonie o	o	o
Rate		dévoré	+ x 4		o	o	o
			Poumons+ Ganglions Tr. br. +		Reinoc. o	Reinoc. +	Reinoc. o
Témoins	meurt	sacrifié		meurt	sacrifié	sacrifié	sacrifié
Epiploon	o	+		o	o	+	+
Rate	Pseudot.	o		o	o	+++ x 6	+++ x 10
				Grossesse avancée	Reinoc. o		Tub. général.

V. EPROUVES 69 JOURS APRES PREPARATION 0, 001 mgr. B ₁ de 20 jours										
Jours	8	26	39	43	72	91	108	150	156	156
Vaccinés			meurt				meurt	meurt pneumonie	sacréfié cachect.	sacréfié cachect.
Épiploon			+				o	o	o	+
Rate			+ x 2				o Reinoc +	+ x 6	+++ x 5 ganglion pylorique	o x 4 orchite vaginal. caséeuses
Témoins	meurt	meurt	sacréfié	meurt	meurt	meurt				
Épiploon	o	+++	++++	+	++++	+++				
Rate	o	+++	+++ x 6	+	+++ x 15 Tub. général.	+++ x 10 Tub. général.				

demnes, nous avons réinoculé épiploon et rate, qui se sont révélés avirulents. Ces deux témoins « ratés » enlèvent beaucoup de valeur aux cas de deux sur les *trois vaccinés restés strictement indemnes après 143 et 165 jours*. Si l'un de ces trois cas avait bien reçu des bacilles virulents, puisque son épiploon et sa rate, broyés ensemble, ont tuberculisé 2 cobayes, pour les deux autres, la réinoculation est restée négative.

SÉRIE V. — *Eprouvés 69 jours après préparation*. Dans cette série au contraire, l'inoculation a été très virulente, comme le montre la mort rapide des témoins. C'est la seule série où la survie des vaccinés soit nette, grâce à la rareté des infections intercurrentes. Alors que les témoins étaient tous morts cachectiques, les vaccinés avaient encore un état général florissant ; puis vers le 130^e jour, assez brusquement, leur résistance a semblé fléchir, ils ont maigri ; chez l'un d'eux est apparue une vaginalite séreuse, puis purulente, avec orchite. C'est une suite exceptionnelle de l'inoculation péritonéale de bacilles virulents ; cette localisation rapproche la tuberculose de cet animal des tuberculoses de l'homme allergique. Bien que les rates, à partir du 150^e jour, fussent gravement atteintes, *les épiploons étaient restés totalement indemnes* ou seulement légèrement touchés. Remarquons enfin

le cas du « vacciné » mort au 108^e jour, indemne, mais porteur de bacilles virulents, comme l'a montré la réinoculation.

En résumé : Les faits mis en évidence par chaque série concordent sur un certain nombre de points.

1^o C'est l'épiploon, c'est-à-dire la porte d'entrée des bacilles, l'organe qui manifeste le mieux sa résistance à la surinfection. Si l'on parcourt des yeux nos tableaux, on voit, chez les vaccinés les épiploons marqués d'une ou de deux croix pour les séries I et II, de zéros pour les séries III, IV et V ; alors que les épiploons témoins, à partir du 25^e jour environ, méritent presque tous trois à cinq croix. D'après cela, il semble que l'immunité soit meilleure après le 49^e jour de préparation qu'entre le 24^e et le 35^e jour.

2^o Les rates par contre, et même dans les cas où l'épiploon est resté indemne, finissent presque toujours par être le siège de lésions typiques, quoique moins graves et plus tardives que chez les témoins. La topographie des lésions chez les vaccinés se rapproche alors de celle qu'on obtient chez des cobayes neufs par une inoculation très peu virulente : épiploon normal ou presque normal, ganglion épiploïque sous pylorique hypertrophié, rate tuberculeuse. (C'est par exemple l'image que nous présentent les témoins sacrifiés le 165^e jour, dans la série IV, pour laquelle nous pouvons admettre que la dose d'épreuve a été minime).

3^o Dans sept cas sur 26, (32, 64, 81, 93, 108, 165 et 165 jours après l'inoculation d'épreuve), nous avons trouvé des organes abdominaux sains, ou seulement suspects à l'œil nu, alors que les témoins correspondants avaient tous des lésions importantes, sinon généralisées. Dans cinq de ces sept cas, l'épiploon et la rate, broyés ensemble, ont tuberculisé le cobaye, prouvant ainsi que le vacciné indemne avait bien reçu des bacilles d'épreuve et qu'il les avait tolérés sans les annihiler. Il est fort probable d'ailleurs que, morts ou sacrifiés plus tard, ces « vaccinés » auraient présenté eux aussi des lésions, comme le montre le tableau de la série V. Dans un cas la réinoculation est restée négative. Dans un autre elle n'a pas été faite.

4^o Sur 32 témoins, 8 sont morts sans lésion tuberculeuse ; six avant le 21^e jour après l'épreuve, avant que des lésions

macroscopiques aient eu le temps de se développer ; deux seulement sont morts indemnes après le 21^e jour (au 107^e et au 148^e jour). Seuls les organes du second ont été réinoculés, ils se sont montrés avirulents. Nous admettons que cet animal n'a pas reçu de bacilles d'épreuve dans son péritoine, contrairement à la plupart des vaccinés restés indemnes.

Bref, dans aucune série nous n'avons observé de résistance absolue de tous les cobayes à l'inoculation virulente. Un cinquième de ceux-ci seulement semble avoir résisté, mais les délais d'observation ont été trop courts pour que nous puissions même supposer que ces animaux seraient restés indemnes beaucoup plus longtemps. Nous ne pouvons donc parler ici de vaccination complète. Il semble qu'après une période de tolérance, la résistance baisse, et que les bacilles d'épreuve, restés *vivants et virulents*, pullulent et créent des lésions. Cette immunité caractérisée par la tolérance des germes nouveaux, et qu'on pourrait opposer à une immunité idéale, bactéricide, est d'ailleurs celle qu'on observe le plus souvent en tuberculose expérimentale, même chez des cobayes préparés par des bacilles vivants et virulents.

Mais on pouvait se demander si — sauf dans la série IV, — nous n'avons pas employé une infection d'épreuve trop sévère. C'est pourquoi nous avons tenté une deuxième série d'essais.

§ 3. *Deuxième série de contrôles.* — Dans cette série nous avons voulu éprouver avec une souche *peu virulente* des cobayes préparés avec le même mélange que les précédents, paraffine et bacilles bovins B 1. Nous avons choisi pour cela la souche humaine Mart... Un centième de milligramme, inoculé dans le péritoine, a donné à nos témoins des lésions viscérales nettes, bien que souvent discrètes, en trois mois, mais au bout de huit mois, six témoins sur trente sont encore en vie, et ceux qui sont morts semblent avoir été victimes d'infection intercurrente plus souvent que de leur tuberculose. D'autre part nous avons réparti nos trente « vaccinés » en trois séries, I, II et III, éprouvées respectivement 42, 50 et 104 jours après l'inoculation préparante. Enfin nous avons

désiré laisser survivre nos animaux aussi longtemps que possible. C'est pourquoi nous n'apportons ici que les résultats qui nous ont été fournis par les morts spontanées et le sacrifice des survivants de la série II. Dix préparés, et quatre témoins sont encore en observation. Le tableau suivant résume les constatations d'autopsie.

Ce tableau montre dès maintenant qu'ici encore il est impossible de parler de vaccination complète. Si trois « vaccinés » sont restés indemnes (série II, jours 65 et série III, jours 42 et 115), trois témoins étaient également indemnes 176, 168 et 170 jours après l'épreuve. Aucune réinoculation n'a été pratiquée.

Cependant l'accroissement de résistance des vaccinés est évident ; leurs lésions sont, d'une manière générale, beaucoup plus discrètes que celles des témoins — du moins avant le 200^e jour —, bien que les témoins soient, pour la plupart, morts bien avant les vaccinés. Cette différence en faveur des vaccinés, est, comme dans la série précédente, plus nette au niveau de l'épiploon qu'au niveau de la rate.

Les animaux de la série II, sacrifiés le 225^e jour, appellent une remarque. Les quatre vaccinés avaient un épiploon parfaitement normal, une rate nettement tuberculeuse dans trois cas sur quatre, et leurs ganglions inguinaux *droits* étaient hypertrophiés ou même caséeux, de même que les ganglions sous-lombaires. Il n'y avait aucun abcès de la paroi. On peut donc supposer que le péritoine a résisté victorieusement à l'infection, mais que quelques bacilles ont été abandonnés par l'aiguille dans la paroi, bacilles trop rares pour donner un abcès local, mais capables d'infecter le ganglion voisin, puis la rate. Nous pratiquons en effet nos inoculations intrapéritonéales au niveau du flanc *droit*. Il est d'autre part difficile d'admettre que dans ces quatre cas nous ayons poussé toute notre injection (2 cc. de liquide) dans la paroi, sans nous en apercevoir. Les témoins sacrifiés le même jour avaient des adénites inguinales *bilatérales* et des épiploons tuberculeux. L'un d'eux avait un abcès de la paroi, démontrant la possibilité d'une inoculation à la fois péritonéale et pariétale.

Ces cas fortuits sembleraient plaider en faveur d'une résis-

DEUXIEME SERIE DE CONTROLES

Séries	Jours après l'épreuve	Vaccinés		Témoins	
		Epiploon	Rate	Epiploon	Rate
I	110	+	+	+	+
	130			+++	+++
	146	+	+	+++	+++
	168	+	o	o	o
	170	+	o		
	214			+++	+
	252			o	+++
	Cobayes encore vivants		6	2	
II	65	o	o		
	90			+++	+
	96			++	++
	103			+++	+++
	140			+	+
	154	+	+		
	170			o	o
	180			++	+++
	180			o	+
	200	++	+++		
	200 ^e	+	+		
	225 ^e	o	+++	+	+++
	225 ^e	o	+++	+	+++
	225 ^e	o	+		
	225 ^e	o	o		
	(adénop.inguinale)				
III	42	o	o	o	+++
	52			+	o
	56			++	+
	59			++	++
	88			+	+
	91			+++	++
	115	o	o		
	167	o	+	o	o
	176	+	+		
	Cobayes encore vivants		4	2	

^e : animaux sacrifiés.

tance plus grande du péritoine que de la paroi. Quoiqu'il en soit, ils mettent en évidence une cause d'erreur importante, lors de l'épreuve de l'immunité péritonéale.

§ 5. *Conclusions.* — Une observation fortuite de Coulaud sembla montrer que l'épreuve par voie péritonéale permettrait de mettre en évidence, mieux que l'épreuve par voie cutanée, l'immunité des cobayes préparés par les bacilles tués enrobés dans la paraffine : vingt cobayes ainsi préparés avaient résisté à une inoculation virulente intrapéritonéale. Deux séries de contrôle, portant respectivement sur 26 et 30 cobayes « vaccinés », ne nous ont pas permis de conclure à une vaccination complète. Les cobayes préparés ont, dans l'ensemble, présenté des lésions beaucoup moins graves que les témoins. Certains sont même morts, 3 et 4 mois après l'inoculation d'épreuve, *sans présenter aucune lésion tuberculeuse*, mais le sort de ceux qui leur ont survécu nous fait penser qu'il ne s'agissait que d'un retard, très appréciable, dans l'évolution de l'infection. Tout se passe comme si les germes d'épreuve étaient tolérés pendant quelques mois, au bout desquels la résistance fléchit. A ce moment les bacilles créent les lésions habituelles, en laissant cependant souvent intacte la porte d'entrée, à savoir l'épiploon.

Néanmoins les différences de résistance observées en faveur des vaccinés, vis-à-vis d'infections relativement virulentes, nous laissent penser que, dans la première expérience relatée, un heureux concours de circonstances, que nous n'avons pu retrouver, a permis de constater pour quelques cobayes une vaccination remarquablement efficace.

Nous insisterons en terminant sur les causes d'erreur que nous avons rencontrées au cours de ces infections par voie péritonéale :

1^o L'inoculation échoue parfois complètement, sans doute par inoculation dans l'intestin.

2^o Les lésions, surtout lorsqu'on utilise une émulsion peu virulente, n'évoluent pas chez tous les témoins avec la même rapidité. Il suffit de parcourir nos colonnes de témoins pour s'en rendre compte.

3^o Il peut arriver que quelques germes infectent la paroi

abdominale, et il est alors très difficile de savoir ce qui revient à l'inoculation péritonéale et à l'inoculation pariétale.

§ 5. *La question de la bactériolyse péritonéale.* — Nous avons tenté de suivre de plus près le sort des bacilles vivants introduits dans le péritoine des cobayes allergiques. La question a été vivement discutée autrefois. MANWARING et BRONFENBRENNER (72) concluaient à une bactériolyse due aux cellules fixes du péritoine. RIST, KINDBERG et ROLLAND (88), tout en niant la lyse rapide et brutale des bacilles, véritable phénomène de PFEIFFER, que prétendaient avoir vue DEYCKE et MUCH, ainsi que KRAUS et HOFER, admettaient que de nombreux bacilles étaient détruits dans les 24 ou 48 premières heures. Leur argument le plus impressionnant était celui-ci : sur onze liquides de péritonite allergique réinoculés au cobaye, quatre n'avaient pas pu tuberculiser cet animal, après des temps d'observation de 21, 43, 53 et 66 jours. (Un liquide fut réinoculé à 2 cobayes). BURNET (21), reprenant ces expériences, vit tous les cobayes réinoculés avec des liquides de péritonite allergique devenir tuberculeux.

Il nous a semblé qu'une cause d'erreur pouvait fausser ces expériences : peut-être le cobaye tuberculeux était-il capable de détruire le bacille nouveau venu, et le liquide péritonéal contenait-il seulement des bacilles provenant de l'inoculation *préparante*. De fait, nous avons provoqué chez deux cobayes tuberculeux (la rate et le foie étaient atteints) une péritonite allergique à *bacilles morts*. Nous les avons sacrifiés, mourants, au bout de 24 heures, et avons réinoculé leur liquide péritonéal séro-hémorragique à quatre cobayes, qui sont devenus rapidement tuberculeux.

La réalité de cette cause d'erreur étant démontrée, on pouvait espérer, si la bactériolyse existait chez les cobayes préparés par les mélanges paraffinés, la mettre en évidence par le procédé si simple de la réinoculation de l'épanchement péritonéal.

Exp. — Nous avons inoculé 0 mgr. 1 de bacilles bovins B1 vivants, en suspension dans 5 cc. d'eau physiologique, dans le péritoine de 14 cobayes divisés en trois groupes :

le premier comprenait 5 cobayes neufs ;

le deuxième comprenait 4 cobayes tuberculisés 30 à 50 jours auparavant, par des ganglions caséeux de cobayes, contenant du bacille humain virulent ;

Le troisième comprenait 5 cobayes rendus fortement allergiques (intradermo-réaction nécrotique à la tuberculine diluée au 1/100), par centigramme de bacilles bovins tués enrobés dans la paraffine, injectés 43 jours auparavant.

Nous avons sacrifié ces animaux après 24 ou 48 heures, et prélevé le liquide péritonéal et les flocons fibrineux. Dix secondes de centrifugation à 500 tours à la minute permettaient de séparer les flocons du liquide surnageant. Les cobayes neufs n'ayant presque aucun épanchement, mais quelques flocons, nous leur avons injecté une heure avant de les sacrifier, 5 cc. d'eau physiologique dans le péritoine, afin de laver la séreuse. Nous avons réinoculé séparément flocon et liquide, sous la peau de la cuisse de cobayes sains.

Ceux-ci furent sacrifiés 68 à 76 jours plus tard. *Tous étaient tuberculeux*, sauf un, qui avait reçu le culot de centrifugation du liquide péritonéal d'un cobaye *neuf*. Chez les autres, la tuberculose avait toujours atteint le ganglion sous-lombaire, et souvent la rate. Les différences entre les lésions n'étaient pas suffisamment régulières pour qu'on pût opposer tel groupe à tel autre.

Cette expérience n'est donc pas favorable à l'idée d'une destruction *totale* des bacilles nouveaux venus. Lorsque nous fîmes ces essais nous pensions encore que nos cobayes préparés par le mélange paraffiné pouvaient être complètement vaccinés. Depuis lors, des expériences de contrôle nous ont montré qu'il n'en était rien, et la survie des bacilles dans le liquide péritonéal nous étonne moins.

Cependant on ne peut nier une immunité relative du péritoine des cobayes allergiques — qu'il s'agisse d'allergie par bacilles morts ou par bacilles vivants —, ni une destruction *partielle* des bacilles. A. GAIGINSKY et R. LAPORTE (42) ont montré en effet que si chez des cobayes tuberculeux on abaisse la dose d'infection du péritoine à 0 mgr. 0001 « la surinfection péritonéale ne paraît pas évoluer, si l'on en juge par l'absence de lésions macroscopiques de l'épiploon » (50 jours après la surinfection). D'autre part, ils ont montré que chez les surinfectés la teneur en bacilles *cultivables* de l'épiploon comme de l'épanchement est beaucoup moins grande

que chez les primo-infectés. Nous concluerons avec eux :

« Dans le cas de surinfection péritonéale. BURNET avait expliqué la disparition des bacilles tuberculeux par l'entraînement de ces germes dans l'épiploon. Il pensait ainsi interpréter les résultats de RIST, KINDBERG et ROLLAND, MANWARING et BRONFENBRENNER qui avaient conclu à la lyse des bacilles d'épreuve dans le péritoine des animaux tuberculeux. Nos expériences montrent que, en réalité, la teneur en bacilles cultivables de l'épiploon est beaucoup plus élevée chez les primo-infectés que chez les surinfectés ; elles sont donc en faveur de l'hypothèse d'une destruction progressive des bacilles. Par ailleurs, le fait que les lésions macroscopiques de l'épiploon sont toujours beaucoup plus importantes chez les primo-infectés vient également à l'appui de cette opinion. »

CHAPITRE III

IMMUNITÉ ET HYPERSENSIBILITÉ

I

Après avoir décrit les essais que nous avons rapportés quelques pages plus haut, A. SAENZ conclut : « L'augmentation considérable du pouvoir allergique ⁽¹⁾ ne s'accompagne pas, dans nos expériences, d'une progression parallèle de l'immunité » (100).

Nous ne pouvons souscrire sans réserve à cette conclusion, même en nous référant exclusivement aux faits décrits par cet auteur. Celui-ci, en effet, nous a montré :

1^o Que les bacilles morts en suspension aqueuse, et en injection intramusculaire, confèrent au cobaye une sensibilité cutanée à la tuberculine très faible, ainsi qu'une résistance médiocre ou nulle aux surinfections.

2^o Que par contre les bacilles morts en suspension dans l'huile de paraffine, et en injection intramusculaire, confèrent au cobaye une sensibilité cutanée à la tuberculine « au moins aussi intense que celle produite par les bacilles tuberculeux vivants et virulents » et possèdent « un pouvoir vaccinant marqué », à condition que l'on emploie de petites doses d'épreuve.

Pour admettre que le mélange paraffiné a augmenté « parallèlement » la sensibilité à la tuberculine et l'immunité du cobaye, — jusqu'au jour du moins où des courbes pourront

(1) Nous dirions plus volontiers « du pouvoir sensibilisant ». Pour von Pirquet en effet, l'immunité et l'hypersensibilité sont deux aspects de l'allergie, terme très général, dont il est le créateur, et qu'il définit : « modification de l'aptitude à réagir de l'organisme » (vis-à-vis de la substance qui a entraîné cette modification). Cf. Allergie. Berlin 1910, p. 86.

nous représenter ces deux phénomènes sur un même graphique —, nous ne demanderons pas que ce mélange confère une vaccination « totale ». A celle-ci devrait alors correspondre une hypersensibilité « totale » ou « absolue », dont nous ignorons quel test pourrait la mettre en évidence. Il nous suffira de constater une résistance aux surinfections qui se rapproche sensiblement de celle que présentent des cobayes préparés par des bacilles tuberculeux vivants et virulents, c'est-à-dire les cobayes tuberculeux.

Or, chez ceux-là non plus, *la résistance aux surinfections n'est jamais totale*. Si l'on n'assiste pas à la généralisation des lésions dues aux bacilles d'épreuve, c'est que la généralisation et la mort surviennent du fait des bacilles de primo-inoculation, et nous empêchent de connaître le destin, à longue échéance, de la surinfection. A. BOQUET (8) a étudié le sort des bacilles d'épreuve à brève échéance : « Même s'ils ne laissent aucune trace de leur passage au lieu de la surinfection, ils n'en pénètrent pas moins dans les vaisseaux lymphatiques ; ils se déposent dans les ganglions et provoquent des lésions, où les processus de sclérose tendent à devenir prédominants... La stérilisation progressive des tissus surinfectés, du moins du derme et du tissu conjonctif sous-cutané... peut même devenir complète chez les animaux gravement tuberculeux, néanmoins les ganglions lymphatiques les plus proches de la surinfection apparemment abortive peuvent être contaminés par les bacilles d'épreuve qui y déterminent des lésions scléreuses et caséeuses ». Encore cette stérilisation complète est-elle si exceptionnelle ⁽¹⁾ qu'elle prête à discussion. De plus, la peau n'acquiert cette résistance relative « qu'au début de la deuxième moitié de la durée totale de la primo-infection », et le testicule et les méninges n'atteignent jamais le même degré de résistance. (BOQUET). Enfin les bacilles de surinfection, s'ils sont immobilisés et inhibés dans leur multiplication, ne sont pas tous détruits. (BOQUET et LAPORTE, (14))

SAENZ a observé chez ses cobayes vaccinés, un nodule accéléré de surinfection de KRAUSE et PETERS, identique à ce qu'il est chez le cobaye tuberculeux. Et le blocage *temporaire*

(1) Rist et Rolland ne l'ont constatée qu'une fois sur 13 essais.

des bacilles d'épreuve au lieu d'inoculation observé par SAENZ, est du même ordre de grandeur (9 jours) que celui que BOQUET (8) a observé chez les cobayes préparés avec le bacille peu pathogène R¹ (5 à 10 jours) et peu inférieur à celui que BOQUET et LAPORTE (13) constatent chez des animaux gravement tuberculeux (15 jours).

Certes, là encore, aucune expérience n'a mis en parallèle deux séries de cobayes, l'une préparée avec des germes virulents vivants, l'autre avec des bacilles morts, dans l'huile de paraffine, et *éprouvées par la même émulsion virulente*. Cependant nous pouvons admettre, après ce que nous venons de dire, que le cobaye *récemment* vacciné par les paraffines bacillifères, se rapproche du cobaye tuberculeux, *tant par sa résistance aux surinfections que par sa sensibilité à la tuberculine*. Envisagées sous cet angle, résistance et surinfection ont donc subi un accroissement « parallèle ».

Et s'il y a quelque fait décourageant, ou décevant, dans l'étude de la vaccination antituberculeuse du cobaye et du lapin, ce n'est pas que l'action immunitaire du bacille mort soit très différente de celle du bacille virulent, — nous venons de voir qu'il n'en est rien — mais bien le fait que les germes vivants et virulents eux-mêmes ne puissent conférer à ces animaux une vaccination totale vis-à-vis des bacilles nouveaux venus.

II

Mais on peut poser la question du parallélisme de l'hyper-sensibilité et de l'immunité sous une autre forme, et se demander si ces deux aspects de l'allergie restent parallèles dans le temps chez un même cobaye. Apparaissent-ils ensemble ? Disparaissent-ils ensemble ? Dans quelle mesure le premier conditionne-t-il le second ? Autant de problèmes qui n'ont été qu'à peine abordés, en ce qui concerne l'action des paraffines bacillifères. Quelques expériences en cours, de COULAUD, sembleraient indiquer que sensibilité et immunité deviennent très indépendantes, lorsqu'on s'éloigne de la date de l'inoculation préparante, soit qu'une sensibilité cutanée très marquée à la tuberculine s'accompagne d'une résistance

minime, soit qu'une résistance importante s'observe alors que la sensibilité à la tuberculine a disparu.

Cette relative indépendance est bien connue, et admise, au cours de la tuberculose virulente du cobaye ; dans celle-ci BOQUET et NÈGRE ont montré que la sensibilité tuberculinique devance l'immunité (16). Mais ce sont surtout les vaccinations par les bacilles atténués qui ont permis, en conservant longtemps les animaux, de dissocier dans le temps hypersensibilité et immunité. BALDWIN et GARDNER (4), puis H. S. WILLIS (130), ont vu que des cobayes vaccinés depuis 18 à 30 mois avec du bacille atténué R¹ avaient perdu toute sensibilité cutanée à la tuberculine (1), et présentaient cependant une résistance nette aux surinfections. Le même fait a été observé par CALMETTE et GUÉRIN chez les bovidés vaccinés avec le B. C. G., dont la tolérance aux bacilles d'épreuve équivaut à une immunité totale, plus d'un an après la vaccination, malgré la disparition de la sensibilité cutanée à la tuberculine.

Enfin on a sensibilisé le cobaye aux bacilles tuberculeux tués, avec des bacilles paratuberculeux de la fléole (BOQUET et NÈGRE (16)) ou avec le bacille de Johne (BOQUET) sans lui conférer la moindre résistance au bacille de Koch.

Plus récemment ROTHSCHILD, FRIEDENWALD et BERNSTEIN (95), dans le laboratoire de RICH, ont surinfecté des cobayes vaccinés avec le bacille R¹ et totalement désensibilisés, à l'aide d'injections quotidiennes de 1 à 2 cc. de tuberculine brute. Ces animaux résistèrent aussi bien que les témoins non désensibilisés. Les auteurs auraient montré ainsi que l'hypersensibilité n'est pas nécessaire à l'immunité, qui

(1) Nous ne discuterons point ici la question de savoir s'il est légitime de juger de l'hypersensibilité par la seule épreuve dermique à la tuberculine. Il semble que la sensibilité cutanée ne soit qu'un des aspects de l'hypersensibilité de l'organisme, et qu'elle puisse parfois évoluer indépendamment de la sensibilité générale ou même de la sensibilité cutanée aux bacilles de Koch (Birkhaug, *Ann. I, P.* 1932, t. 49, p. 630, Boquet, 9).

Baldwin et Gardner, et Willis, ont vu chez leurs animaux, la sensibilité cutanée reparaitre 3 ou 4 jours après une surinfection, c'est-à-dire 2 à 3 fois plus rapidement que chez des animaux neufs après une primo-infection équivalente. Aussi admettent-ils l'existence d'une « allergie latente ». Nous citons tous ces faits pour montrer dans quel chaos on se débat encore, et combien il est nécessaire de préciser les tests dont on fait usage, lorsqu'on discute d'hypersensibilité et d'allergie.

réalise la défense de l'organisme par d'autres mécanismes (RICH, 87). BOQUET (9) était arrivé à des conclusions analogues.

La sensibilité cutanée à la tuberculine nous apparaît donc comme un témoin de l'action profonde (qu'on nous permette ce terme volontairement vague) du bacille, vivant ou mort, sur l'organisme, mais non comme le témoin, nécessaire et suffisant, de l'immunité actuelle de cet organisme ⁽¹⁾. Il peut arriver que ces deux états, immunité et hypersensibilité, coexistent à un moment donné, c'est ce qui arrive dans la plus grande partie de l'évolution d'une tuberculose virulente, c'est aussi ce qui arrive dans les semaines qui suivent l'inoculation de paraffines bacillifères. Mais cette coexistence ne semble pas obligatoire.

Il n'est pas vain d'y insister, d'un point de vue essentiellement pratique : lorsqu'il s'agit d'étudier un bacille, un extrait bacillaire ou un mélange bacillifère, présumé vaccinant, il est beaucoup plus rapide de rechercher d'abord si ce produit sensibilise le cobaye à la tuberculine, vite et fort — il faut pour cela six semaines — que d'éprouver d'emblée son pouvoir protecteur — il faut pour cela plus d'une année. Il serait donc tentant de considérer l'épreuve rapide comme éliminatoire et de n'admettre à l'épreuve définitive que les produits ayant satisfait à la première. L'exemple heureux des suspensions paraffinées pourrait nous inciter à adopter cette méthode. Mais jusqu'ici de nombreux exemples de discordance entre les états d'hypersensibilité et d'immunité ne nous permettent pas de rejeter *à priori* un procédé de vaccination, parce qu'il ne serait pas sensibilisant, qu'il s'agisse du B. C. G. chez l'enfant, ou de recherches expérimentales sur le cobaye. Rappelons à ce sujet que BRANCH et CUFF ont proposé de vacciner l'homme par des bacilles tués, inoculés, — en suspension physiologique, — dans les muscles, parce que disent-ils, cette voie permettrait l'apparition d'une certaine immunité sans hypersensibilité. MACHEBŒUF et DIE-

(1) La théorie selon laquelle l'hypersensibilité est non seulement l'accompagnant obligé de l'immunité, mais encore son *substratum* n'est développée explicitement que par Bessau, pour la tuberculose, et pour d'autres infections, par Teissier, Reilly, et Rivalier (114).

RYCK ont conféré au cobaye et au lapin, une remarquable résistance, avec un « chimio-vaccin » (constitué essentiellement de corps bacillaires épuisés par l'acétone et l'éther) introduit par voie veineuse ; or cette voie est la plus mauvaise pour sensibiliser ces animaux à la tuberculine.

III

Conclusions. — Si l'on inocule au lapin ou au cobaye des bacilles tuberculeux, tués par la chaleur à 120°, et enrobés dans la paraffine ou l'huile de paraffine, on voit se développer chez ces animaux une sensibilité à la tuberculine précoce et persistante (on l'a vu durer deux ans), qui atteint une intensité au moins égale à celle que produisent des bacilles tuberculeux vivants et virulents ; cette sensibilité est nettement plus intense et plus durable que celle que produisent les bacilles morts en suspension dans l'eau physiologique, ou le B. C. G., administrés à la même dose, en une seule injection.

On devait se demander si à un tel accroissement du pouvoir sensibilisant des bacilles morts, correspondait un accroissement parallèle du pouvoir vaccinant. Dès maintenant on peut répondre que ce pouvoir est beaucoup plus marqué que celui des bacilles morts en suspension dans l'eau, administrés à la même dose et en une seule injection. Avec les réserves que nous avons énoncées plus haut, nous avancerons que ce pouvoir se rapproche de celui des bacilles vivants avirulents et virulents.

Mais nous n'avons pu, même en éprouvant nos cobayes par la voie péritonéale et avec de faibles doses de bacilles peu virulents, mettre en évidence une « vaccination totale » de ces animaux. Nous ne nous étonnerons pas, puisque les bacilles virulents eux-mêmes n'ont pas le pouvoir de mettre leur hôte totalement à l'abri des bacilles de surinfection.

Si les paraffines n'ont pas permis de vacciner complètement le lapin ou le cobaye à l'aide de bacilles morts, les faits que nous venons de décrire n'en posent pas moins d'intéressants problèmes, tant au sujet de la sensibilisation à la tuberculine que de l'immunité antituberculeuse.

Ils montrent que les bacilles morts peuvent avoir une action plus voisine de celle des bacilles vivants qu'on ne l'avait pensé jusqu'ici. Ils peuvent faire apparaître un état durable, qui a toutes les caractéristiques d'une infection bénigne par des bacilles vivants avirulents : lésion « tuberculeuse » durable au point d'inoculation et dans les ganglions voisins ; présence de corps bacillaires au niveau de ces lésions ; état allergique durable caractérisé par l'hypersensibilité à la tuberculine et aux corps bacillaires, et par une résistance appréciable aux infections d'épreuve. Seule manque la présence de *bacilles vivants*.

Cet état si spécial n'est pas *infection*, puisqu'il n'y a pas de germe vivant dans l'organisme. Nous ne pouvons donc appeler *prémunition* la résistance qu'il comporte. En effet Ed. SERGENT et PARROT (111) donnent le nom de prémunition « à un état particulier de résistance, contemporain de l'infection et cessant avec elle... Pour prémunir, il faut donc infecter ; les virus vaccins doivent être vivants. »

Nous devons donc admettre, à côté des infections tuberculeuses virulente et avirulente, un état de résistance aux surinfections, qui n'est ni l'immunité vraie qui suit une infection dont les germes ont disparu, ni une prémunition. Cet état se rapproche cependant beaucoup de l'état de prémunition : le B. C. G. est cité par SERGENT et PARROT comme le type du vaccin prémunissant. Or le B. C. G. ne semble pas rester présent dans l'organisme du lapin et du cobaye plus longtemps que les bacilles virulents morts enrobés dans la paraffine, — au contraire. De même les lésions et l'allergie que le B. C. G. fait naître disparaissent chez le lapin et le cobaye en sept à douze mois, (COULAUD (32), BOQUET et BRETEY (10)) c'est-à-dire plus rapidement que celles qui sont dues aux bacilles enrobés.

Cet état spécial d'immunité suppose une grande résistance du germe tué à sa destruction dans l'organisme ; c'est une des particularités du bacille tuberculeux, et ce caractère semble encore renforcé par l'enrobage. Il suppose aussi, jusqu'ici, la présence de doses de bacilles plus grandes et de lésions plus volumineuses, que l'état de prémunition par le B. C. G.

Cette notion d'un état allergique durable comportant une résistance aux surinfections, et dû aux bacilles morts, se dégage de plus en plus nettement des nombreux travaux sur les bacilles tuberculeux morts, depuis STRAUS jusqu'à BESSAU, PETROFF et OPIE. Mais le procédé de COULAUD, en rendant les phénomènes plus évidents et plus réguliers, lui donne une base expérimentale beaucoup plus solide et indiscutable. Ce procédé montre de plus qu'en tuberculose expérimentale comme ailleurs la façon de donner vaut mieux que ce qu'on donne. Qu'apporte donc de nouveau cette façon d'administrer les bacilles morts ? Nous avons voulu poser cette question tout d'abord à l'anatomie pathologique.

TROISIÈME PARTIE

ANATOMIE PATHOLOGIQUE

Les bacilles tuberculeux tués enrobés dans la paraffine solide ou liquide provoquent des lésions nettement différentes de celles que provoquent les mêmes bacilles en suspension aqueuse. — Injectons à un cobaye, sous la peau de la cuisse, une grosse dose (10 mgr. pesés secs) de bacilles tuberculeux tués par la chaleur, et en suspension physiologique. Cinq jours après, apparaît au point d'inoculation un petit nodule dur, gros comme une lentille ou un petit pois ; vers le quinzième jour ce nodule se ramollit, s'ulcère et se vide. Un à trois mois après l'inoculation, il n'en reste pas trace. Si l'inoculation est faite dans le muscle, l'élimination du pus est plus tardive, ou manque. Mais, trois mois après l'inoculation, il ne reste, dans la règle, aucune altération macroscopique.

Dans les deux cas, les ganglions inguinaux et sous-lombaires restent normaux pendant toute l'évolution. Les poumons ne présentent jamais aucune lésion.

Au contraire, inoculons la même dose de bacilles, mais en suspension dans l'huile de paraffine. L'abcès apparaît plus tardivement : du dixième au quinzième jour, mais il est rapidement beaucoup plus volumineux ; il s'ouvre aussi plus tardivement ; souvent même il ne s'ulcère pas. Et un an après, on retrouve un amas de pus, contenant des gouttes d'huile et des bacilles nettement colorables.

Dès le cinquième jour, après l'inoculation sous-cutanée, les ganglions inguinaux sont nettement hypertrophiés, et les

poumons présentent presque tous, entre le vingtième et le quatre-vingtième jour, des *granulations vitreuses* plus ou moins nombreuses. Il en est de même avec des bacilles enrobés dans la paraffine solide.

Nous avons pensé que l'étude comparative de ces lésions pourrait peut-être nous expliquer les différences constatées entre les allergies que confèrent ces deux modes d'administration des bacilles tués.

Il est d'autre part nécessaire de les connaître lorsqu'on est amené à étudier la résistance que présentent à une infection tuberculeuse d'épreuve les animaux préparés par ces techniques. En effet l'observateur non prévenu, rencontrant pour la première fois les nombreuses granulations pulmonaires que nous décrirons plus loin, se demandera d'abord si ces bacilles vaccins étaient réellement tués. Si par aventure, l'animal préparé est mort avec des lésions de pseudo-tuberculose de la rate ou des ganglions mésentériques, il sera tenté d'étiqueter ces granulations : pseudo-tuberculose spontanée du poumon ; si enfin il les rencontre chez un animal éprouvé par une inoculation virulente, il ne saura s'il doit les attribuer à la vaccination ou à l'infection d'épreuve.

Pour terminer, nous étudierons les lésions produites par les paraffines pures et nous tâcherons de comprendre le mécanisme des migrations et des lésions.

Les auteurs qui se sont occupés du bacille tuberculeux mort enrobé dans la paraffine ou l'huile de paraffine ont seulement insisté sur l'abcès local créé par l'injection du mélange. Pourtant COULAUD (30) avait prévu l'importance des migrations de la paraffine supportant les bacilles, et, de fait Mrs. THOMSON (115), HAGAN et LEVINE (47), en avaient montré la réalité dès 1932, pour les suspensions, en huile de paraffine, de bacilles paratuberculeux vivants ou tuberculeux bovins morts. Cependant ils n'ont pas mis en évidence la présence de l'excipient au niveau des métastases et n'ont pas fait l'examen histopathologique de ces lésions. Ils décrivent seulement leur aspect macroscopique. Et ils ne font aucun rapprochement entre ces lésions et l'état allergique de leurs animaux, qu'ils n'ont pas cherché à déceler, sauf

dans les expériences de Mrs. THOMSON sur les bacilles *para-tuberculeux vivants*.

Ces lésions à distance, métastases ganglionnaires et pulmonaires, nous ayant particulièrement frappé et contrastant singulièrement avec l'absence de toute lésion à distance après inoculation des bacilles morts en suspension aqueuse, c'est sur elles surtout que nous insisterons dans la présente étude. Nous les avons étudiées presque uniquement sur le cobaye, mais elles se voient aussi facilement chez le lapin.

CHAPITRE PREMIER

LÉSIONS PRODUITES PAR LES INJECTIONS SOUS-CUTANÉES ET INTRAMUSCULAIRES DE PARAFFINES BACILLIFÈRES

A. Lésions locales

§ 1. — *Constatations macroscopiques*

Paraffine solide. — Immédiatement après l'injection de 0 cc. 5 de paraffine bacillifère fondue sous la peau de la nuque, on sent un petit nodule dur et mobile. Du sixième au dixième jour, ce nodule grossit considérablement et brusquement. Plus tard il se ramollit et peut s'ouvrir à la peau. L'abcès ainsi formé persiste extrêmement longtemps (plus d'une année) et se propage souvent très loin de son lieu d'origine. Il n'est pas rare qu'il vienne s'ouvrir au niveau du rebord costal antérieur, ou dans la région sternale. Il en résulte de vastes abcès, contenant parfois plusieurs centimètres cubes de pus et formés de plusieurs poches indépendantes.

Si l'on sacrifie l'animal du 6^e au 10^e jour, on constate la formation, autour de la paraffine, d'une épaisse membrane fibreuse. La paraffine elle-même est peu à peu remplacée par une pâte friable, jaunâtre, puis par du pus épais ou fluide.

Huile de paraffine. — L'injection de 0,5 à 1 cc. d'huile de paraffine bacillifère a les mêmes conséquences ; on observe les mêmes migrations de l'abcès.

Il est seulement à remarquer que le pus se forme très lentement ; jusqu'au neuvième jour environ on ne trouve

qu'un liquide huileux grisâtre, semblable à celui qu'on a injecté. Puis, peu à peu apparaissent quelques traînées jaunâtres, qu'un frottis montre constituées de polynucléaires. Mais la phagocytose des bacilles y est minime. Quelques bacilles sont inclus dans une grande vacuole claire à l'intérieur d'un leucocyte. La plupart restent libres.

§ 2. — *Constatactions microscopiques*

Paraffine solide. — Du dixième au quinzième jour l'abcès à bacilles « paraffinés » est constitué par un grand nombre de logettes ovalaires, vides, entourées d'une très importante réaction cellulaire, telle qu'il y a, généralement, dès cette date, beaucoup plus de tissu réactionnel que d'espaces vides.

Les logettes sont de dimension très variable. Leur diamètre va de 10 à 500 microns. Schématiquement on peut décrire au pourtour de chacune d'elles :

— un premier revêtement fait d'une ou deux assises de polynucléaires et de cellules épithélioïdes mélangés ;

— une *vaste plage ovale de cellules épithélioïdes*, parsemées de quelques polynucléaires. Dans cette zone se voient de rares cellules géantes, dont une grosse vacuole occupe parfois tout le cytoplasme. Rares aussi sont les macrophages à grosse vacuole, qui sont si nombreux autour des injections de paraffine pure.

— une épaisse ceinture, colorée en jaune vif par le safran, constituée d'abondants faisceaux collagènes, semés de nombreux noyaux semblables à ceux des cellules épithélioïdes ; vers la périphérie, ces noyaux deviennent fusiformes et s'orientent en cercles concentriques.

Sur les coupes à l'hématéine-éosine-safran, ces lésions élémentaires apparaissent comme autant de pains à cacheter violet-rose, percés d'un petit trou, et noyés dans une atmosphère jaune vif. Mais dès cette date apparaissent quelques zones nécrotiques.

Evolution. — Trois faits viennent modifier cet aspect initial :

— *L'envahissement des logettes.* — Celles-ci disparaissent peu à peu, morcelées ou envahies. La paraffine semble être

remplacée par du tissu nécrotique. Vers le sixième mois, on ne trouve plus aucun trou, et le polariseur ne met en évidence que de très rares grains biréfringents pouvant être les vestiges de la paraffine. Qu'est devenue celle-ci ? A-t-elle été morcelée et disséminée dans l'importante masse purulente ? Une partie a-t-elle été expulsée au dehors ? A-t-elle été réellement digérée ? Nous l'ignorons.

— *La nécrose des plages épithélioïdes.* — Celles-ci s'enrichissent de plus en plus en polynucléaires, au centre d'abord, à la périphérie ensuite. Puis apparaissent de petites zones de nécrose : amas de cellules mononuclées prenant uniformément l'éosine, nombreux débris nucléaires et petits grains de paraffine. Ces zones remplacent peu à peu toute la plage épithélioïde, jusqu'à la barrière fibreuse.

— *La fusion des lésions élémentaires.* — Favorisée par la nécrose envahissante, ralentie par les importants trousseaux fibreux qui sont apparus très précocement, cette fusion aboutit à la formation d'un gros abcès unique, contenant un caseum pâteux, riche en débris nucléaires. Sa paroi est faite d'une zone de macrophages, entourée d'une ceinture de fibrocytes, qui s'amincit avec le temps. Dans cette paroi on trouve longtemps encore, quelques petites formations épithélioïdes élémentaires, centrées d'une petite lacune.

Les bacilles se trouvent, très nombreux et bien colorables, sur les frottis de pus, pendant 4 à 6 mois. Puis ils diminuent de nombre, mais très inégalement. On en trouve encore au bout d'un an.

Sur les coupes, les bacilles sont très rarement phagocytés. On en trouve alors un ou deux dans une grosse vacuole claire d'un macrophage, mais guère dans les polynucléaires. On les trouve le plus souvent libres : soit dans les logettes, fixés sur un léger reticulum non acido-résistant provenant de la culture, soit sur les bords de la logette — c'est là leur lieu d'élection — soit en petits amas au milieu des masses nécrotiques.

On peut avoir la chance, au pourtour du foyer, d'en trouver dans un lymphatique fortement dilaté. Il est exceptionnel d'en voir dans un capillaire contenant des globules rouges.

Huile de paraffine. — L'aspect et l'évolution des lésions

sont exactement superposables. La phagocytose des bacilles enrobés dans l'huile est aussi rare que celle des bacilles enrobés dans la paraffine solide.

L'huile se retrouve *in situ* pendant plusieurs mois (SAENZ). Son sort ultérieur nous est inconnu.

Comme on le voit, de nombreux problèmes sont restés dans l'ombre :

— Le mécanisme du morcellement si rapide de la paraffine bacillifère, morcellement qui ne se produit pas si on inclut à froid un bloc de cette paraffine sous la peau. (COULAUD).

— Le sort de la paraffine et de l'huile de paraffine.

— Le sort des bacilles, et le mécanisme de leur lente disparition.

B. Métastases ganglionnaires

§ 1. *Constatations macroscopiques*

L'apparition des adénopathies régionales est précoce et constante. Nous l'avons constatée dans les délais suivants :

Inoculation de paraffine liquide ou fondue bacillifère :

Dans la plante	g. poplité	: le 4 ^e jour (1)
	g. inguinal	: du 5 ^e au 8 ^e jour
	g. sous-lombaire	: le 14 ^e jour
Dans la nuque	g. cervical superficiel externe	: du 7 ^e au 13 ^e jour
	g. cervicaux inférieurs	: inconstants
Dans les muscles		
de la cuisse	g. poplité	: du 4 ^e au 8 ^e jour
	g. sous-lombaire	: le 11 ^e jour
	g. inguinal profond	: inconstant
	g. inguinal superficiel	: inconstant

A l'autopsie le ganglion atteint parfois dix fois son volume normal. Il est dur, et la coupe peut y faire voir quelques points jaunes qu'un frottis révèle extrêmement riches en bacilles, ou même une goutte de pus épais.

(1) Nous appelons « premier jour » le jour de l'inoculation.

§ 2. — *Constatations microscopiques*

Nous étudierons simultanément les lésions des ganglions après injection, dans leur territoire, de paraffine fondue ou d'huile de paraffine bacillifères ; ces lésions sont en effet les mêmes, que les bacilles soit émulsionnés dans l'un ou l'autre de ces excipients.

Les premiers jours l'hypertrophie ganglionnaire ne se traduit, au microscope que par une hyperplasie lymphoïde et une dilatation des sinus, plus riches en lymphocytes et en macrophages. Mais on voit des dilatations en grains de chapelet du sinus marginal, et des *lacunes rondes* en plein tissu lymphoïde cortical. Ces trous ne sont limités que par l'endothélium sinusal non modifié ou simplement par les lymphocytes au milieu desquels ils sont creusés. On trouve sur leurs bords des bacilles acido-résistants.

Dès le dixième jour les lésions caractéristiques sont constituées. *La capsule* est fortement épaissie : d'une part les lames fibro-élastiques s'adjoignent de nouvelles couches concentriques, formées de cellules fusiformes, d'autre part se développent de grandes nappes conjonctives, formées de cellules étoilées, sans orientation spéciale. Ces nappes entourent parfois de larges canaux, qui longent le ganglion en soulevant à leur niveau la capsule, et qu'il est logique de considérer comme des lymphatiques afférents considérablement dilatés. Ils sont totalement ou partiellement comblés par des cellules mononuclées à grand noyau clair et ovalaire, et par quelques polynucléaires.

Le parenchyme est fortement modifié par la présence de *vastes plages épithélioïdes criblées de lacunes*. Selon la gravité des lésions, il s'agit soit de quelques îlots, d'une vingtaine de cellules, disséminés dans la zone corticale, entre les follicules dont on reconnaît encore la structure, soit de vastes plages remplaçant presque entièrement les follicules. Ces nappes semblent partir de la capsule, et refouler le tissu cortical vers la médullaire, car leur limite fibreuse vient s'attacher à la face interne de la capsule. Elles sont constituées par un nombre très variable de nodules élémentaires, abso-

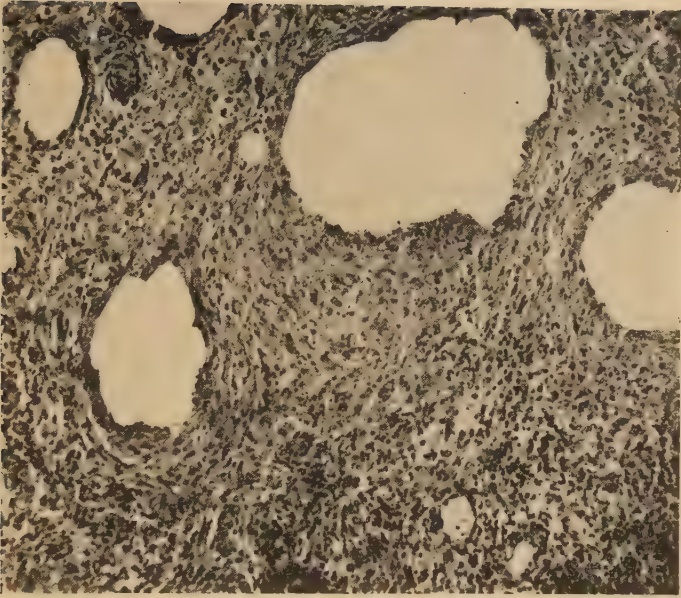


FIG. 1. — Ganglion cervical. Remarquer la forme et la dimension des logettes, entourées de tissu fibreux. 88 jours après inoculation de paraffine bacillifère sous la peau de la nuque. Gross.: 110.

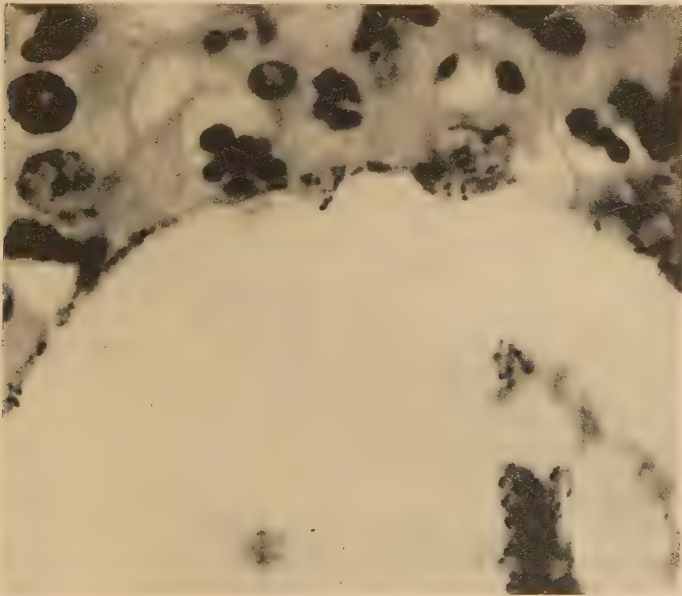


FIG. 2. — Même ganglion que fig. 3. Bacilles nombreux sur les bords d'une logette et au milieu de celle-ci. Gross : 1.500.

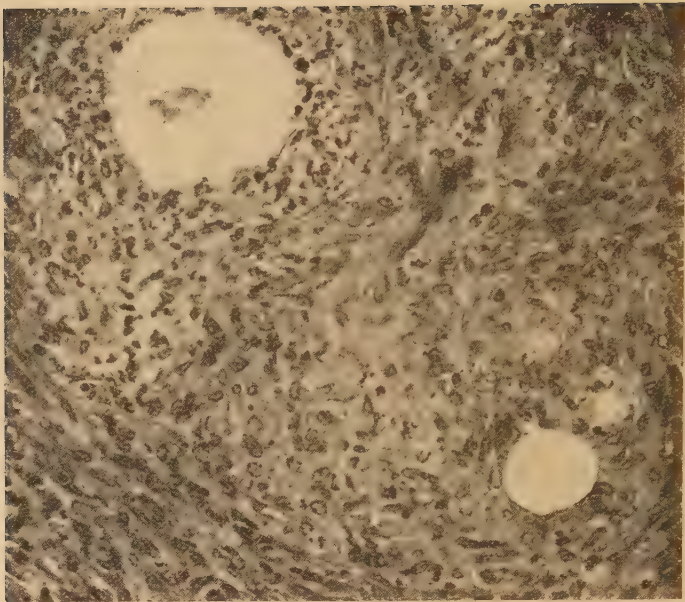


FIG. 3. — Ganglion sous-lombaire. Deux logettes entourées, l'une de cellules épithélioïdes, l'autre de polynucléaires. Début de formation d'une ceinture fibreuse. 10 jours après injection d'huile de p. bacillifère dans les muscles de la cuisse. Gross : 300.

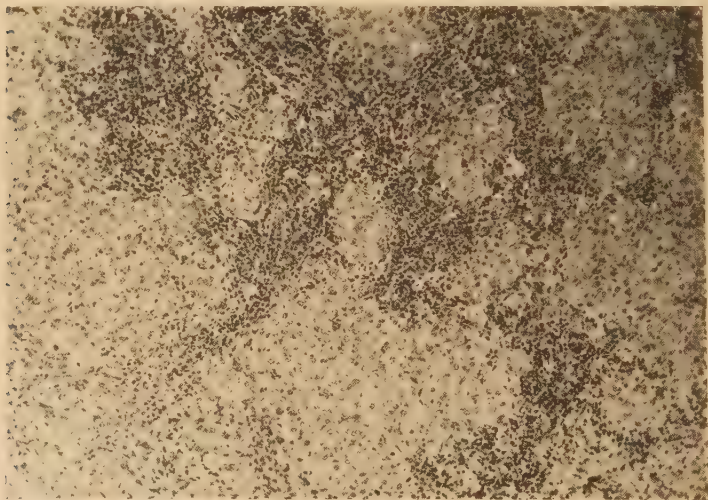


FIG. 4. — Ganglion cervical. Huile de p. bacillifère, dans la nuque, 43 jours auparavant. Gr. $\times$ 120.

lument caractéristiques de ces adénopathies, et formées essentiellement d'une *lacune centrale entourée d'une couronne de cellules épithélioïdes*.

La *lacune* est généralement arrondie ou ovale, d'autres fois irrégulière, polycyclique ou polygonale, épousant la forme du grain de paraffine migrateur (fig. 1). Son diamètre varie de quelques microns à 300 microns. Ses bords sont parfois soulignés par un liseré de bâtonnets acido-résistants (fig. 2). Ceux-ci peuvent aussi se trouver en gros amas au milieu des trous, et semblent alors soutenus par un fin réseau non acido-résistant. Par contre on en voit remarquablement peu dans les cellules qui bordent le trou. De nombreux trous sont cependant absolument vides de bacilles, et on doit admettre que ceux-ci, mal fixés aux bords de leur logette, ont disparu avec leur soutien paraffiné au cours des manipulations. Ces lacunes n'ont pas de paroi propre : leurs bords, tantôt nets, sont formés par une assise de cellules épithélioïdes à noyau rond ou ovale que rien ne distingue des cellules moins centrales, au milieu desquelles le trou semble avoir été fait à l'emporte-pièce ; tantôt plus flous, ils sont formés d'une ou deux assises de polynucléaires, au delà desquels on trouve la *couronne de cellules épithélioïdes*, deuxième élément caractéristique (fig. 3).

Cette couronne est constituée presque uniquement par deux à huit assises de grandes cellules mononuclées. Leur noyau est clair, vésiculeux, pauvre en chromatine, arrondi ou allongé. Leur cytoplasme est faiblement coloré par l'éosine. Leur limite est polygonale, ou, plus souvent, mal définie. Ces éléments semblent alors s'anastomoser, et ils forment de vastes syncytiums, où les noyaux sont régulièrement distribués. On voit quelques *rare*s cellules géantes : il s'agit soit d'éléments à deux ou trois noyaux, entourant une vacuole, soit de plus grosses cellules, dont un des pôles est occupé par huit à dix noyaux serrés les uns contre les autres, et le centre souvent creusé d'une vaste vacuole. Par contre, on trouve fort peu de macrophages vacuolaires.

Parmi les nodules, certains sont, dès le dixième jour, entourés par des cercles concentriques de cellules fusiformes, à noyaux très allongés, noyées dans des fibres collagènes

(fig. 3). D'autres se continuent sans transition avec les vestiges du tissu lymphocytaire, qui ne remplit plus que les interstices, entre les nodules, rappelant ainsi les images de tuberculose atypique humaine, ganglionnaire ou lupique. Ceci est surtout net lorsque la disposition nodulaire schématique est absente, ce qui s'observe souvent : en particulier là où la coupe ne passe pas précisément par une lacune. On ne voit plus alors que de vastes plages de cellules épithélioïdes, sans orientation spéciale, semée de trous clairs et de lambeaux lymphocytaires foncés (fig. 4). Mais il n'y a pas de zone lymphocytaire propre à chaque nodule, contrairement à ce qui se passerait dans un follicule typique. Enfin, si beaucoup des zones épithélioïdes contiennent quelques rares polynucléaires, quelques-unes seulement présentent en leur centre une zone nécrotique : amas de cellules mononuclées dont on reconnaît les corps fortement éosinophiles, semés de débris nucléaires.

Quant aux cordons folliculaires, ils sont souvent infiltrés de petits amas épithélioïdes et les sinus sont remplis de lymphocytes, de plasmocytes et de quelques macrophages.

Evolution. — Si l'on suit l'évolution des lésions jusqu'au 125^e jour, on constate peu de modifications qualitatives. Les nodules deviennent plus régulièrement arrondis, mieux limités, les quelques lymphocytes qui les infiltraient disparaissent. Souvent toute architecture folliculaire et médullaire est supprimée. Deux tendances, présentes toutes deux dans le même ganglion, se font jour. *Vers la fibrose* : les polynucléaires tendent à disparaître des bords des lacunes, qui sont limités par une assise de mononucléaires à noyau allongé, aplati, comme moulé sur le trou (fig. 1), et les faisceaux collagènes sont souvent colorables jusque sur les bords mêmes. Au delà, les cellules épithélioïdes sont plus ou moins disloquées par l'infiltration de collagène et quelques tourbillons de fibrocytes. A partir du 70^e jour nous avons observé d'importantes endothélites des capillaires, partiellement ou totalement oblitérantes, qui donnent un aspect très particulier à la coupe. Les lacunes n'ont aucune tendance à s'oblitérer, on y trouve encore de nombreux bacilles colorables. *Vers la nécrose* : par places, les plages épithélioïdes

ou fibrosées sont brusquement interrompues par des nappes prenant fortement l'éosine. On y reconnaît des bandes compactes et anhistes, fortement éosinophiles, mais aussi de nombreux corps cellulaires : mononucléaires à petit noyau rouge foncé, à cytoplasme rose vif, et débris de noyaux violets foncés. Au centre de ces plages nécrotiques, il n'y a plus qu'une poussière rose pâle semée de débris nucléaires ; mais jamais, sauf par toutes petites places, nous n'avons rencontré la plage caséeuse typique, homogène et totalement dépourvue de débris cellulaires. Cet aspect classique est d'ailleurs rare chez le cobaye : même au centre de tubercules authentiques, la nécrose est souvent infiltrée de nombreux débris nucléaires.

Les coupes à la congélation permettent seules de mettre en évidence les grains de paraffine et les gouttes d'huile dans les logettes que nous venons de décrire, et jusqu'au 175^e jour (nous n'avons pas de document plus tardif). Les plus gros grains de paraffine solide sautent probablement hors de la coupe lors des manipulations, mais il est fréquent d'en trouver d'un diamètre de 50 microns. Ils sont colorés par un bain de 15 à 20 minutes dans le Scharlach R, mais d'une manière très incomplète : ils sont tachés de veines ou de grains orangés (ou jaunes par le Soudan), ou sont couverts d'un fin précipité rose orangé lorsqu'on a prolongé la coloration. Ils sont d'ailleurs aisément reconnaissables par leur réfringence et leur forme grossièrement cristalline ; ils présentent des facettes et des angles multiples.

Mais de nombreux grains, beaucoup plus petits, que ne révèle pas une lacune, ne sont mis en évidence que par *la lumière polarisée*. Avec des nicols croisés, sur le fond noir, un grain se dessine, sous forme d'un cercle brillant, où est inscrit un carré sombre, à côtés légèrement curvilignes à convexité intérieure. Le centre du carré est souvent brillant. Ces grains — que nous appellerons moyens — sont intercellulaires, ou quelquefois nettement situés dans une cellule géante. Enfin les grains les plus petits, de la dimension d'un gros noyau cellulaire, donnent la même image, se colorent faiblement et incomplètement par le Scharlach et sont situés. — aussi souvent qu'une coupe à congélation permet d'affir-

mer leur situation —, dans une vacuole d'un macrophage. Mais à cette échelle, il est impossible de savoir s'il s'agit d'une vacuole lipoïde ou d'un grain de paraffine. Nous reprendrons cette discussion au sujet du poumon.

L'huile de paraffine se colore en rouge vif par le Scharlach et en jaune pâle par le Soudan III. On la trouve en abondance dans les logettes — ou seulement adhérente aux bords de celles-ci, — et parfois en véritables laes dans les sinus médullaires. Les bacilles d'ailleurs signalent son trajet, sur les coupes à la paraffine ; nous les avons retrouvés, en effet, dans les lymphatiques afférents, dans le sinus marginal et dans les sinus médullaires d'un même ganglion, avant que sa structure soit altérée.

C. Métastases pulmonaires

§ 1. — *Constatations macroscopiques*

Les poumons apparaissent souvent dès le onzième jour criblés de petites granulations grises, vitreuses (« pearly nodes » de Mrs. THOMSON) et parfois blanches, opaques, de un demi à trois millimètres de diamètre, ressemblant à s'y méprendre à des granulations tuberculeuses récentes (fig. a). Si elles sont difficiles à apercevoir, un séjour de quelques heures dans le Bouin les fera ressortir en jaune vif. Aux doses que nous avons employées, et chez le cobaye, nous n'avons jamais observé ni les granulations à centre jaune, ni les vastes « pneumonies caséeuses » que décrivent Mrs. THOMSON, HAGAN et LEVINE. Les frottis des nodules montrent surtout des cellules mononuclées et parfois des bacilles acido-résistants.

Il est remarquable que la paraffine solide donne naissance à ces granulations aussi souvent et aussi rapidement (dès le onzième jour) que l'huile de paraffine. Avec cette dernière, nous les avons observées :

avant le 11 ^e jour	:	0	fois	sur	5	cas	autopsiés
entre le 11 ^e et le 12 ^e jour	:	10	»	»	14	»	»
» » 21 ^e » » 31 ^e »	:	7	»	»	9	»	»
» » 40 ^e » » 80 ^e »	:	22	»	»	27	»	»
au 88 ^e jour	:	0	»	»	1	»	»

Avec la paraffine solide :

Avant le 11 ^e jour	:	0 fois sur plusieurs cas autopsiés
Entre le 11 ^e et le 15 ^e jour :	4 » »	7 » »
» » 15 ^e » » 40 ^e » :	12 » »	15 » »
» » 40 ^e » » 82 ^e » :	10 » »	11 » »
» » 108 ^e » » 175 ^e » :	0 » »	9 » »



FIG. a. Poumons particulièrement riches en métastases. A gauche : paraffine bacillifère injectée sous la peau de la nuque ; à droite huile de paraf. bacillifère injectée dans la patte postérieure. Autopsies trente jours après les injections.

Ces derniers chiffres montrent que les migrations se produisent dès les premières semaines ; que les lésions qu'elles provoquent ne sont pratiquement plus visibles à l'œil nu au delà du 100^e jour, et que l'abcès d'inoculation n'est plus infectant à cette époque, bien qu'il soit généralement alors d'un volume considérable.

Ni les ganglions trachéo-bronchiques, ni le foie, ni la rate n'ont présenté aucune modification macroscopique.

Les poumons, la rate et le foie de cobayes présentant de nombreuses lésions pulmonaires ont été inoculés à plusieurs cobayes. Aucun de ceux-ci n'est devenu ni tuberculeux, ni hypersensible à la tuberculine.

§ 2. — *Constatations microscopiques*

L'examen histologique des poumons nous a montré bien souvent des lésions importantes, *alors même que l'examen à l'œil nu ne révélait aucune tache suspecte*. En particulier nous en avons retrouvé de typiques chez des animaux sacrifiés de 110 à 175 jours après l'inoculation du mélange, et dont les poumons semblaient macroscopiquement sains. La caractéristique de ces lésions pulmonaires n'est pas tant leur volume que leur fréquence — nous pourrions dire leur constance —, leur nombre et leur persistance. Si nous avons insisté ailleurs sur leur visibilité à l'œil nu, c'est que ce caractère a attiré notre attention sur elles, de même que leur ressemblance avec des granulations tuberculeuses au début. Il est d'ailleurs des cas où, peu volumineuses, elles frappent néanmoins au premier coup d'œil, ce sont ceux où elles s'accompagnent d'un épaissement pleural localisé, blanc nacré.

Si nous admettons, ainsi que nous l'avons fait plus haut, que les migrations ont lieu dès les premiers jours qui suivent l'inoculation, nous pouvons considérer que dans un même poumon les lésions sont toutes à *peu près* contemporaines et que chez deux cobayes sacrifiés après le même délai, les lésions pulmonaires auront approximativement le même âge. L'aspect des lésions ne dément pas cette manière de voir, et nous parlerons donc de lésions de début, dix jours après l'inoculation et de lésions âgées, soixante jours plus tard, tout en reconnaissant ce que cette chronologie peut avoir d'artificiel. Ici encore nous pouvons étudier simultanément des lésions produites par l'huile de paraffine ou par la paraffine bacillifères.

Si, vingt jours après l'inoculation, les lésions pulmonaires ont pris déjà leur aspect caractéristique, au début au con-

traire, soit au dixième jour, elles sont des plus polymorphes, se refusent à toute description d'ensemble et nous obligent à schématiser considérablement leur aspect.

Lésions d'extrême début. Ce sont celles que nous pouvons voir, par exemple, sur un poumon d'apparence normale, neuf jours après une inoculation d'huile de paraffine intramusculaire. La *trame* est notablement épaissie, inégalement, mais presque sur toute l'étendue de la coupe. Cet épaississement est dû surtout à la dilatation des capillaires gorgés de globules rouges, mais aussi à la multiplication des petites cellules alvéolaires. Les *alvéoles* sont généralement libres ; quelques-uns seulement sont bourrés de cellules rondes, et on peut parfois distinguer nettement la trame, à cellules allongées, disposées sur trois ou quatre rangs, de l'alvéole, rempli de cellules rondes, si tassées qu'elles ressemblent à des lymphocytes. Aucun *nodule* vrai n'est visible. Ce n'est que grâce à des coupes en série qu'on aura la chance de tomber sur un bouquet de cinq à six capillaires, généralement situés près de la plèvre, dilatés, vides de sang, qu'on reconnaît à leur paroi anhiste bombant dans un alvéole, ou à un endothélium à noyau très allongé et aplati. Ces capillaires attirent l'attention parce qu'on voit à leur intérieur, et surtout sur leurs bords, de nombreux bâtonnets acido-résistants. Mais plusieurs d'entre eux ne sont encore entourés d'aucune réaction. D'autres sont cerclés d'anneaux concentriques de cellules mononuclées, tassées les unes contre les autres, à noyaux allongés et très foncés. Deux ou trois alvéoles voisins sont comblés de cellules rondes à noyau clair, pauvre en chromatine, et de quelques polynucléaires, dont quelques éosinophiles.

Lésions de début. Ces lésions, qu'on observe du neuvième au quinzième jour environ après l'inoculation, sont de trois sortes : un épaississement considérable de la trame, des plaques compactes, des nodules caractéristiques.

L'épaississement de la trame est considérable ; il transforme la fine dentelle pulmonaire en entrelacs de larges rubans, aussi larges qu'un alvéole. En réalité ces rubans ne sont pas formés uniquement de trame : s'il en était ainsi, en effet, les alvéoles seraient complètement aplatis par l'exubé-

rance de leurs parois ; or il subsiste beaucoup de vésicules aériennes de volume normal (fig. 5). Mais cette nouvelle trame englobe des alvéoles bourrés de cellules mononuclées ; et si, par place, on peut encore les individualiser, le plus souvent il est impossible de le faire. Il n'y a plus qu'un tissu rubanné formé : de cellules mononuclées rondes ou polygonaux par tassement réciproque, à noyau assez foncé, de quelques polynucléaires, et de *gros macrophages contenant*

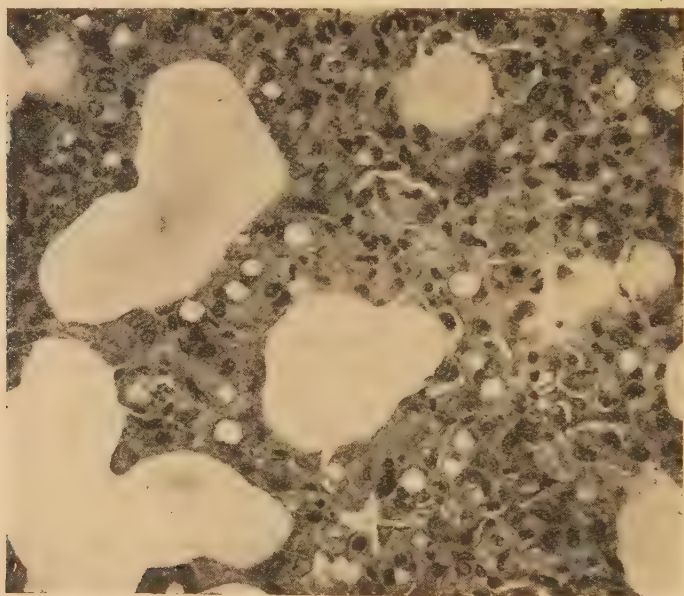


FIG. 5. — Poumon. Trame épaisse et « trouée » par les vacuoles des macrophages. Les grands blancs sont les alvéoles restés libres. 12 jours après inoculation de paraffine bacillifère sous la peau de la nuque. Gross : 300.

une très grande vacuole. Ces gros macrophages apparaissent nettement sur la figure 5, sous forme de petits ronds clairs flanqués d'un noyau en croissant, parfois de deux noyaux. Ils donnent à la trame un aspect troué, et, au premier abord, on pourrait croire qu'il s'agit de capillaires dilatés. Mais l'examen à l'immersion montre que la vacuole est entourée d'un cytoplasme spongieux. Ces macrophages ne se voient pas aussi nombreux sur toutes les coupes, mais seulement

dans les lésions très récentes. Ils semblent dessiner l'ancienne trame pulmonaire ; *on les voit surtout à la périphérie des nodules*, — et non dans le tissu compact des nodules, — sous la plèvre, et dans l'adventice des vaisseaux. Nous verrons plus loin que les vacuoles sont colorées par le Scharlach, mais qu'elles ne représentent probablement pas des grains ou des gouttes de paraffine.

Cet épaississement n'est pas dû, comme on pourrait le craindre, à quelque reliquat d'une infection pulmonaire banale comme on en voit dans les écuries. En effet, il est d'autant plus important que les migrations paraffinées sont plus abondantes, et on peut apprécier cette abondance avec le polariseur. Lorsque ces migrations sont très pauvres, on voit seulement quelques rubans, quelques piliers sous-pleuraux isolés, brusquement interrompus par une trame saine. Mais, au niveau de ces rares piliers, on distingue un petit semis de grains de paraffine.

Les plages compactes sont rares, mais sont parfois telles que le bloc pulmonaire tombe au fond de l'eau. Ces blocs sont formés de la trame que nous venons de décrire, mais tous les alvéoles en sont comblés par une alvéolite tantôt monocytaire, tantôt bigarrée, tantôt à polynucléaires. Ceux-ci forment parfois de gros amas d'éosinophiles. Cette éosinophilie nous a paru contingente. Et ce stade d'alvéolite à purs polynucléaires nous paraît des plus suspects. Il est rare, et pourrait être greffé secondairement, à la faveur d'une infection, sur le stade dit de trame épaissie.

Quant aux *nodules typiques*, ils sont situés le plus souvent sous la plèvre ou près de la plèvre, mais on en trouve aussi en plein parenchyme. Pour les étudier, il faut pratiquer des coupes en séries, qui permettront d'atteindre leur centre. Ce centre est une lacune de 18 à 50 microns de diamètre, et, dans cette lacune, un Ziehl montrera des bacilles, exactement comme sur la figure 2 ; mais il faudra souvent examiner de nombreux Ziehl, et de nombreuses lacunes avant d'en trouver une qui soit richement bacillifère. Les bacilles semblent quitter très facilement leur logette, en suivant leur support paraffiné, au cours des manipulations.

La figure 6 représente cependant une logette *pulmonaire*,

particulièrement grande (grands diamètres : 120 et 72 microns) trilobée, où six coupes successives ont montré de gros amas de bacilles. La lacune n'a pas de bords propres ; il n'est plus question d'y reconnaître un endothélium de capillaire. Elle est creusée en plein milieu d'une plage de monocytes : parfois les parois alvéolaires voisines sont nettement

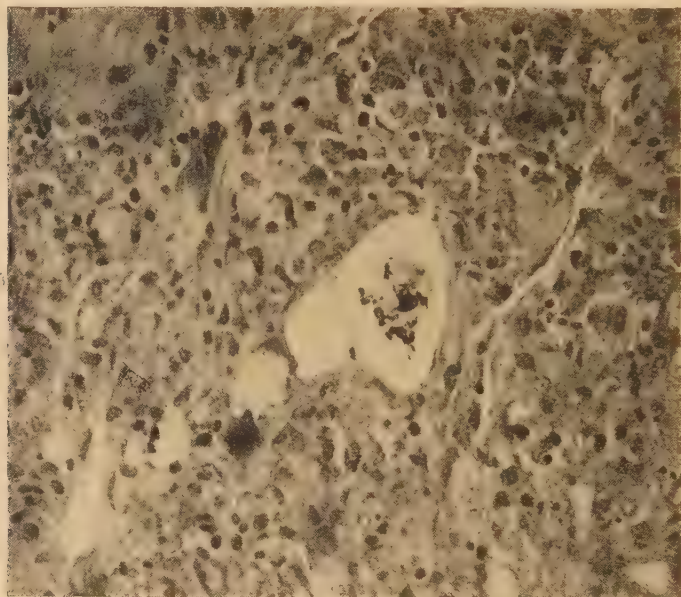


FIG. 6. — Une logette pulmonaire particulièrement grande, pleine de bacilles. Même cobaye que fig. 1. Gross : 300.

reconnaissables : il s'agit d'alvéolite dite desquamative, infiltrée de quelques polynucléaires. Plus souvent (fig. 7) les alvéoles ne sont plus individualisés, il y a simplement une plage de mononucléaires polygonaux ou anastomosés. Ces éléments, par leur cytoplasme abondant et leur noyau allongé et clair, contrastent avec les petites cellules serrées qui forment le tissu de la trame ; ils méritent le nom de cellules épithélioïdes ; au niveau de la lacune ces cellules s'orientent parfois en cercles concentriques. Souvent quelques polynucléaires bordent aussi la lacune, ou forment un petit amas à

son voisinage immédiat. Les cellules géantes sont rares, les macrophages vacuolaires exceptionnels.

Le nodule est plus ou moins bien limité : si le poumon est gravement atteint, le nodule se continue, comme par des expansions, par les rubans que nous avons décrits plus haut (fig. 7). Si le poumon est peu touché, le nodule est limité par

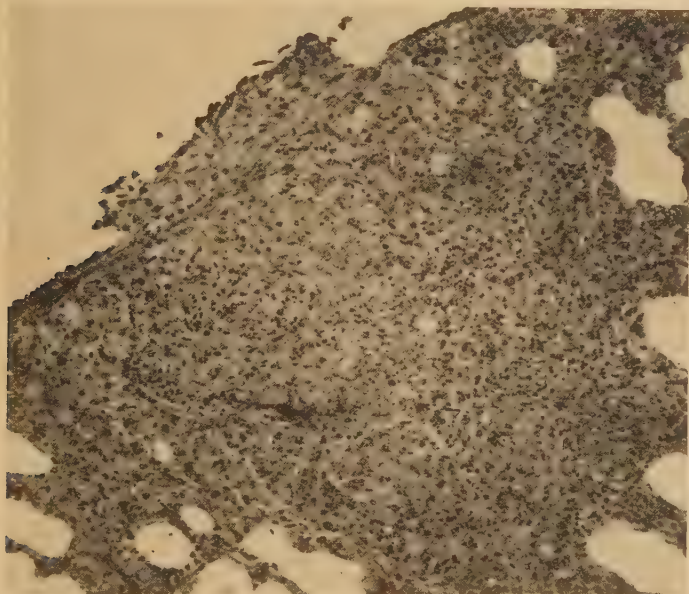


FIG. 7. — Même poumon que fig. 5. Nodule en voie de constitution. Logette très petite. Polynucléaires à son voisinage. Épaississement pleural. Gross : 110.

une zone où les alvéoles sont un peu tassés, se revêtent d'épithélium cubique et prennent l'aspect d'acini glandulaires ; ceci est net surtout entre le nodule et la plèvre ; vers l'intérieur du poumon le nodule est parfois limité par une zone d'alvéolite catarrhale.

La plèvre, présente presque toujours, au niveau de ces nodules, un épaississement prononcé : la limitante élastique n'est pas atteinte ni déformée ; le mésothélium pleural devient cubique, et il est brusquement séparé de la limitante élastique par quelques assises de mononucléaires à noyau clair (fig. 7). Ces épaississements pleuraux peuvent prendre

la forme de chapeau de champignon, ou de villosité (fig. 8) et s'infiltrèrent plus tard de lymphocytes et d'abondants faisceaux collagènes.

Evolution. — L'évolution est lente, et n'exige pas une chronologie très précise.

Vers le quarantième jour : la trame est, *en général*, rede-

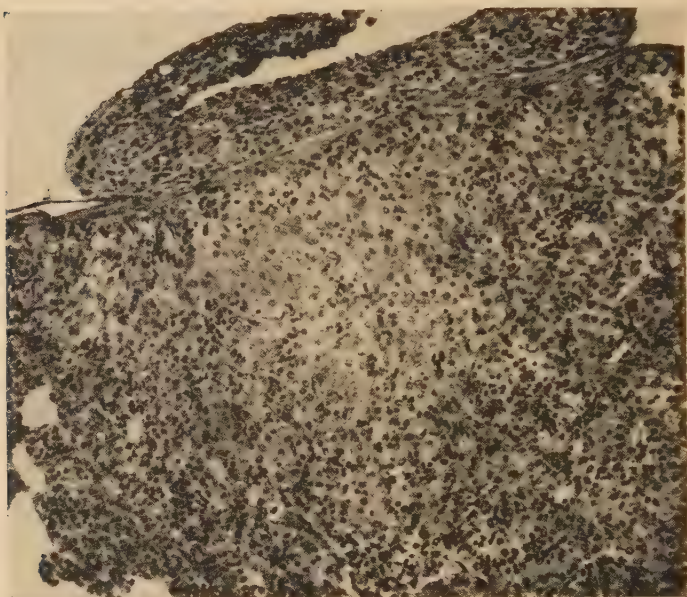


FIG. 8. — Nodule plus avancé. 43 jours après inoculation d'huile de paraffine bacillifère sous la peau de la nuque. Centre épithélioïde. Villosité pleurale. Gross : 110.

venue presque normale ; les nodules tranchent plus nettement sur l'ensemble du tissu pulmonaire ; on voit alors mieux leur topographie (fig. 9) : ils sont isolés, percés d'un seul ou de trois ou quatre trous ; ailleurs ils dessinent de petites grappes de trois ou quatre nodules, percés chacun d'un trou. Très souvent, surtout s'ils sont sous-pleuraux, ils sont triangulaires à base pleurale, et une artériole longe soit leur sommet pulmonaire, soit l'un de leurs côtés.

Quant à leur composition elle est également plus stéréotypée : centre clair à cellules épithélioïdes, peu serrées, à

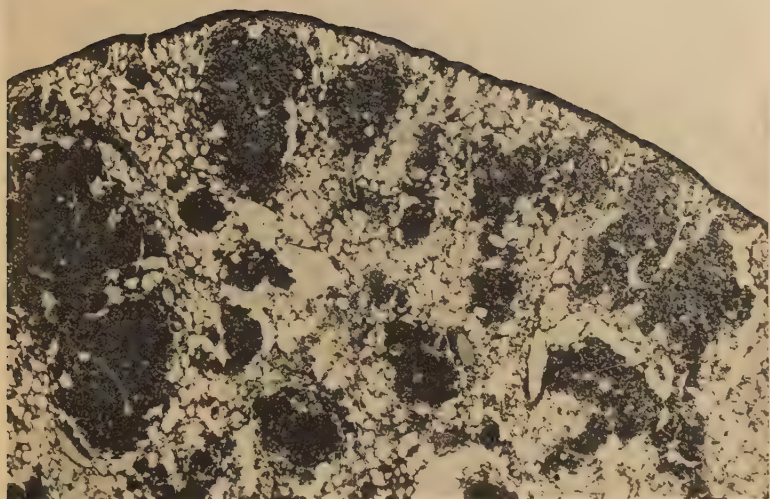


FIG. 9. — Nombreux nodules séparés par un tissu pulmonaire normal. Dans chacun d'eux on voit deux ou trois logettes très petites, à contour net. Cette image rappelle celle d'une tuberculose miliaire. Huile de paraffine bacillifère sous la peau de la nuque 76 jours auparavant. Gross : 45.

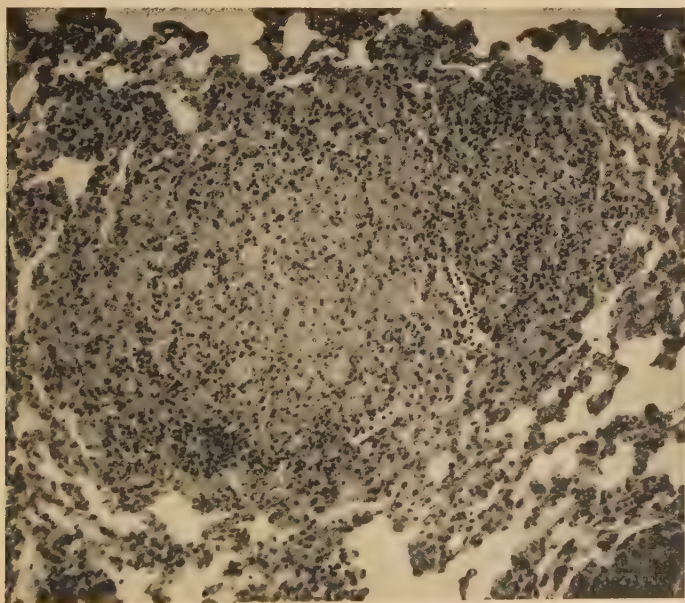


FIG. 10. — Nodule pulmonaire isolé, trame presque normale. Vaste centre épithélioïde. Infiltration lymphocytaire périphérique. Paraffine bacillifère (nuque) 47 jours auparavant. Gross : 110.

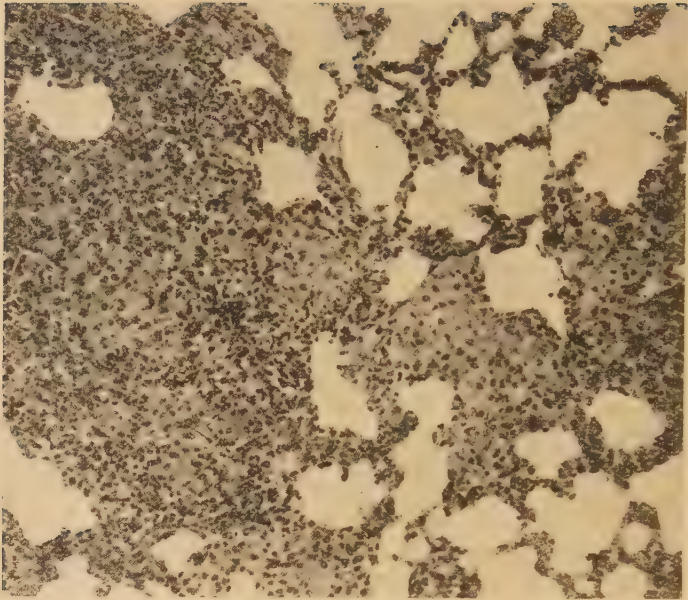


FIG. 10 bis. — Nodules pulmonaires en voie d'organisation fibreuse. Trame normale. Paraffine bacillifère 71 jours auparavant. Gross : 110.

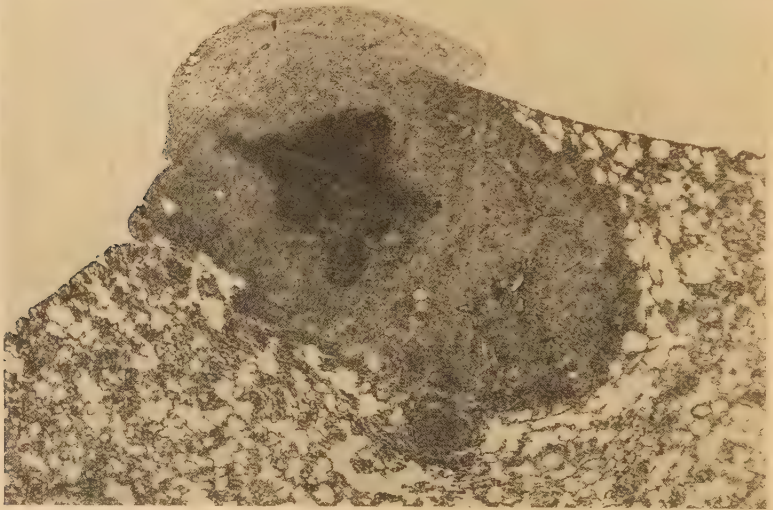


FIG. 11. — Poumon de lapin. Gros nodule caséux. Champignon pleural. 85 jours après inoculation d'huile de paraffine bacill. sous la peau du flanc. Gross : 45. Une coupe voisine du même nodule montrait une très petite lacune pleine de bacilles. Gross : 45.

noyau vésiculeux, pourtour plus foncé, fait d'histiocytes à noyau plus dense, et infiltré de nombreux lymphocytes. Parfois il ne s'agit que d'une apparente couronne de lymphocytes : c'est la gaine lymphoïde du vaisseau dont nous parlions plus haut ; mais souvent il s'agit bien d'une infiltration et même d'un encerclement presque complet qui donne alors au nodule l'apparence d'un vrai follicule tuberculeux (fig. 8, 10 et 10 *bis*) surtout lorsqu'on y voit quelques cellules géantes. Celles-ci se trouvent souvent non au centre, suivant la description classique, mais à la périphérie du nodule. HOLLANDE, avait insisté sur la fréquence de cette disposition dans les lésions tuberculeuses authentiques. Elles seraient, selon MEDLAR, la signature d'un petit foyer de nécrose guéri. Les *polynucléaires* sont beaucoup moins nombreux : on n'en retrouve que dans le voisinage immédiat des lacunes, et d'une façon inconstante. Ils peuvent cependant y former de véritables petits abcès, mais nous n'avons pas vu jusqu'ici de caséification chez le cobaye. Chez le lapin, par contre, quelques nodules présentaient une caséification des plus nettes (fig. 11). Signalons enfin, à la périphérie des nodules, la présence de vaisseaux lymphatiques fortement dilatés, remplis de lymphocytes.

Quant à la *fibrose*, elle est très variable. Au niveau des nodules isolés, elle infiltre légèrement leur périphérie. Par contre, là où ils sont nombreux, elle les infiltre et les enserre d'abondants faisceaux collagènes.

Une autre formation attire l'attention ; ce sont les *nodules lymphoïdes périvasculaires* : ceux-ci prennent une importance considérable ; peu apparents au début, ils sont souvent visibles à l'œil nu à partir du 20^e jour, et forment un chapelet de grains foncés jusqu'au voisinage de la plèvre. Il faut rapprocher cette hyperplasie de celle des formations lymphoïdes normales, qui se trouvent aux bifurcations bronchiques. Cependant nous n'avons jamais trouvé à ce niveau les lésions observées dans les ganglions. Remarquons que ces nodules lymphoïdes peuvent se voir à la suite de nombreuses altérations pulmonaires non tuberculeuses.

Les nappes compactes d'alvéolites se transforment en nappes épithélioïdes, riches en cellules géantes, et en fi-

brose, semée de nombreux alvéoles à revêtement cubique.

Plus tard encore, du 80^e au 175^e jour, la trame apparaît plus normale, les nodules plus rares ; mais on en trouve encore des caractéristiques ; ils sont formés de quelques cellules épithélioïdes et de très nombreux lymphocytes. Par contre les nodules lymphoïdes purs sont souvent très abondants.

EXAMEN DES COUPES A CONGÉLATION

L'huile de paraffine résiste très mal à la coupe. Cependant elle adhère aux bords des logettes, et le Scharlach la colore en rouge-orange pâle. Les logettes sont alors cernées d'un beau cercle coloré ; d'autres fois il ne reste qu'une lunule d'huile adhérente. Seuls les très petits trous sont pleins d'huile colorée. Une seule fois nous avons vu une grosse gouttelette dans une artériole, au milieu de globules rouges.

La paraffine solide se colore d'une façon très irrégulière, comme nous l'avons vu au sujet des ganglions. Par contre, la *polarisation* fait apparaître ses grains d'une façon frappante. Au milieu d'un nodule apparaissent deux ou trois cristaux très brillants (le plus gros de ceux qui sont restés en place mesurait 32×38 microns, mais nous avons vu des logettes trois ou quatre fois plus grosses), entourés d'un semis de petits éclats. Il a rarement été possible d'affirmer que ces éclats fussent intracellulaires. Une fois l'un d'eux était nettement situé dans une cellule géante.

Sort de la paraffine et de l'huile. Nous l'ignorons.

Le Scharlach nous a montré quelquefois, à la *périphérie des nodules*, de très nombreux macrophages, porteurs de grosses vacuoles colorées en rouge, en orangé, ou en jaune pâle.

Ces macrophages à grosse vacuole, nous les avons retrouvés, très visibles, sur les coupes par inclusion à la paraffine (fig. 5) ; nous avons noté leur prédilection pour la périphérie des nodules, les zones sous pleurales, et l'adventice des vaisseaux et des bronches ; mais ils sont parfois disséminés sur toute la coupe ; ils sont situés dans les cloisons alvéolaires,

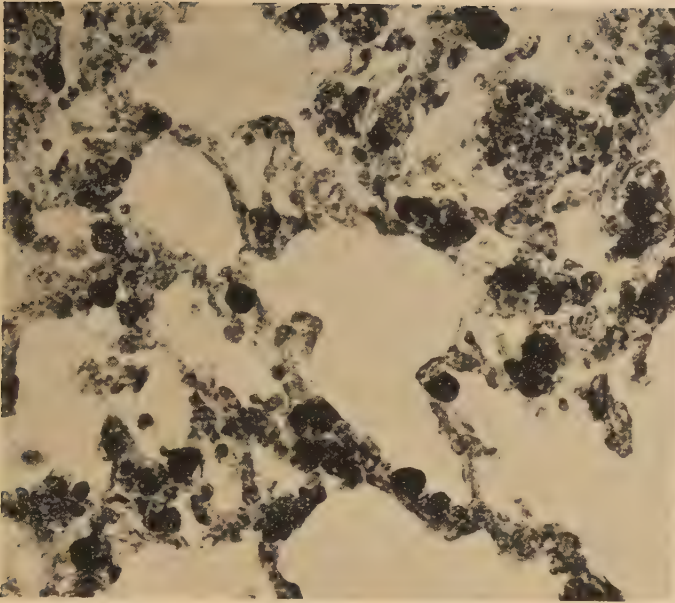


FIG. 12. — Trame au voisinage d'un nodule. Les disques noirs sont des vacuoles. (Scharlach.) Huile de paraf. bacillif. dans la nuque 15 jours auparavant. Gross : 300.

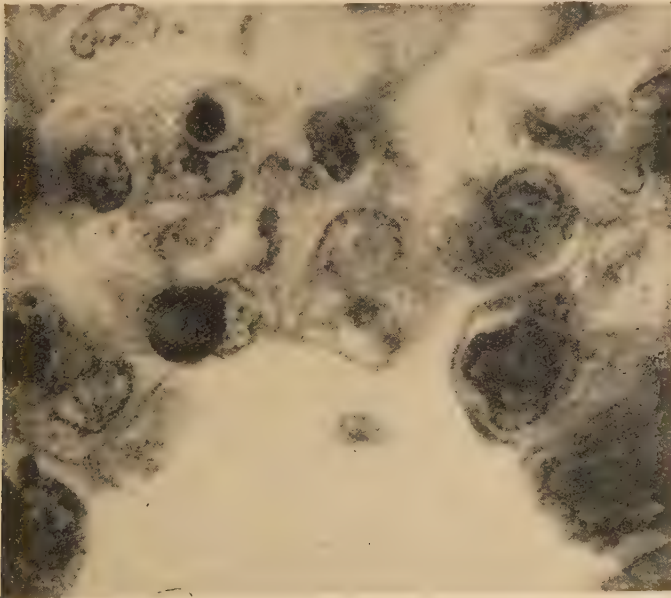


FIG. 13. — Grains sphériques ou irréguliers. Même poumon que fig. 5. Scharlach. Gross : 1.500.

ou font saillie à leur surface là où elles sont encore minces (fig. 12). Lorsqu'on examine une coupe à congélation non colorée, en lumière polarisée, on voit sur fond noir le dessin de la trame, formé d'une série de petits points brillants. Certains de ces points donnent la croix de polarisation, mise encore mieux en évidence par l'interposition d'une lame de Gypse Rouge 1, qui fait apparaître les extrémités de la croix en jaune et en bleu.

Après coloration au Scharlach, les grains polarisent inégalement, et sont inégalement colorés. Les uns sont anguleux, à peine teintés ou veinés de rose et brillent très vivement entre des nicols croisés. D'autres sont arrondis, d'un beau rouge homogène et obscurs entre les nicols (fig. 13). On trouve tous les intermédiaires entre ces deux aspects extrêmes ⁽¹⁾. D'autres macrophages enfin contiennent de nombreuses petites gouttelettes rouges.

Il était tentant de voir dans ces grains des particules de paraffine solide ou liquide transportée, le long des parois alvéolaires, vers les lymphatiques périvasculaires. Mais nous avons retrouvé le même aspect sur des coupes de broncho-pneumonie banale du cobaye : les cloisons bourrées de gouttes rouges entouraient les alvéoles pleins de polynucléaires bleu foncé. On y voyait les mêmes variétés de teintes et de biréfringences. Il est donc normal de considérer ces macrophages comme les témoins d'une phase de l'inflammation pulmonaire.

Il est vrai que GILBERT et JOMIER (44) chez le chien, GRANEL (46) chez le veau, le chat et le rat, ont décrit des « leucocytes géants » absolument semblables à ceux dont nous venons de parler, mais visibles dans des poumons normaux. FAURÉ-FRÉMIET (36) les retrouve chez le cobaye, et pense que les grains brillants sont de la cholestérine. Mais jusqu'ici, nous n'avons pas retrouvé ces macrophages dans des poumons sains de cobaye. Chez un même cobaye nous n'en avons trouvé que dans les lobes lésés. Aussi pensons-nous que chez cet animal, ces macrophages géants, *du moins*

(1) Ils ne sont pas osmio-réducteurs.

lorsqu'ils sont très nombreux, sont bien les témoins d'une inflammation.

Si la paraffine ne devient pas la proie des macrophages, elle a cependant deux voies vraisemblables d'élimination : la voie bronchique, qu'elle peut gagner à la faveur de la nécrose qui l'entoure souvent, et la voie lymphatique.

Ganglions trachéo-bronchiques. — Nous avons retrouvé au niveau des ganglions trachéo-bronchiques — exceptionnellement il est vrai, et seulement chez des cobayes inoculés depuis trois mois, — d'importantes lésions, analogues à celles que nous avons décrites au niveau des ganglions cervicaux ou inguinaux. Il semble donc que, par les lymphatiques dilatés que nous avons vus au niveau des lésions pulmonaires, des gouttes d'huile de paraffine aient pu s'échapper du poumon.

Foie. Rate. — Nous possédons peu de préparations de ces organes. Sur celles du foie seulement, nous avons noté quelques infimes îlots histiocytaires, dont la signification n'est pas encore très claire.

D. Influence de la quantité d'huile de paraffine sur l'apparition de la sensibilité à la tuberculine et des lésions à distance

On pouvait se demander si le volume considérable d'huile injectée (1 cc.) ne favorisait pas la dissémination des gouttelettes bacillifères, grâce à la distension prolongée des tissus, distension qui est extrêmement passagère au contraire avec de l'eau physiologique.

EXP. 1. — A 6 cobayes, nous avons injecté dans les muscles de la cuisse 10 milligrammes de bacilles pesés secs, émulsionnés au mortier dans 0 cc. 1 d'huile de paraffine. A 5 autres, 10 milligrammes de bacilles dans 1 cc. d'huile de paraffine.

Malgré une tuméfaction et une induration de la cuisse environ quatre fois moindre chez les premiers que chez les seconds, l'intradermo-réaction à la tuberculine (0,1 de la dilution au dixième) a été nettement positive, papuleuse au onzième jour chez tous les cobayes ; au vingtième jour, elle

était nécrotique chez 4 cobayes sur 6 du premier groupe, chez 2 sur 5 du deuxième.

EXP. 2. — A 3 cobayes nous avons injecté par la voie plantaire⁽¹⁾ 10 milligrammes de bacilles en émulsion dans 0 cc. 1 d'huile de paraffine. A 12 autres, 10 milligrammes en émulsion dans 0 cc. 5 d'huile.

Malgré une tuméfaction du pied beaucoup plus considérable chez les seconds, les ganglions poplités sont apparus au 4^e jour, les inguinaux superficiels au 5^e jour, chez les uns comme chez les autres. La sensibilité à la tuberculine est apparue également dans les mêmes délais et avec la même intensité dans les deux groupes. Le volume occupé au départ par les bacilles, et la quantité d'huile ne semblent donc pas avoir d'importance.

E. Quelques essais par des voies et avec des microbes variés

Voie dermique. — La voie dermique permet d'observer jour après jour une grande partie des phénomènes locaux, sans sacrifier l'animal.

EXP. — Trois cobayes blancs reçoivent dans la peau du flanc droit 1 milligramme, dans le flanc gauche 0 mgr. 1 de bacilles Vallée pesés secs, en émulsion dans 0 cc. 1 d'huile de paraffine. Trois autres reçoivent les mêmes doses en émulsion dans 0 cc. 1 d'eau physiologique.

Chez les *derniers* on constate : à droite, à la 48^e heure, une papule large de 10 mm. × 10 mm., très saillante, *bien limitée*, centrée par une petite plaque de nécrose de 2 mm. × 2 mm. A la 72^e heure, du pus sourd sous la croûte qui remplace la plaque de nécrose. Le 4^e jour, le pus est sorti, la papule est moins saillante. Au 8^e jour il ne reste plus qu'une papule rose pâle, presque plane, souple, centrée par une croûte punctiforme. Le 38^e jour subsiste seulement la

(1) Cette voie permet de suivre à la palpation l'apparition des adénopathies poplités et inguinales qui ne sont pas masquées par la tuméfaction inguinale que produisent parfois les inoculations dans la cuisse. Par contre elle détermine un gros œdème de la jambe, et parfois des plaques de sphacèle de la plante.

croûtelle. A gauche, l'élimination a été encore plus rapide : à la 48^e heure, une papule de 2 mm. $\times$ 2 mm. est centrée d'une nécrose punctiforme, remplacée dès le 4^e jour par une croûtelle entourée d'une minuscule papule non indurée. Le ganglion inguinal gauche n'a jamais été hypertrophié ; le droit l'a été très faiblement, du 6^e au 25^e jour, chez deux cobayes sur trois ; les sous-lombaires étaient tous normaux à l'autopsie, pratiquée le 38^e jour. Les intradermo-réactions à la tuberculine, pratiqués les 14^e, 28^e et 36^e jours, furent toutes négatives.

Chez les *premiers* on constate au contraire à droite : à la 48^e heure, une large papule allongée, de 20 mm. $\times$ 10 mm. *mal limitée* ; à la 72^e heure, le centre blanchit ; le 6^e jour, alors que les cobayes témoins sont déjà en voie de guérison, l'infiltration devient diffuse, elle entoure une papule rouge foncé, indurée, au centre nécrotique, large de 4 mm. $\times$ 4 mm d'où s'écoule par pression, non du pus, mais une sérosité sanguinolente. Peu à peu l'infiltration se limitera à la papule centrale, qui forme un épais bourrelet, véritable cratère, dont le centre, selon les jours, est une grande ulcération sanguinolente, ou une croûte peu adhérente. Cet aspect subsiste jusqu'au 38^e jour, date de l'autopsie. A gauche, les mêmes phénomènes se déroulent, l'infiltration et l'ulcération sont seulement légèrement (environ d'un tiers) plus petites qu'à droite. Les ganglions inguinaux sont hypertrophiés dès le 6^e jour, nettement à droite, légèrement à gauche, et le restent jusqu'à l'autopsie. Celle-ci montre en outre, chez un des cobayes, des poumons criblés de granulations grises. Chez celui-ci, l'intradermo-réaction à la tuberculine a été nécrotique le 36^e jour ; chez les deux autres, elle s'est montrée papuleuse aux trois épreuves pratiquées les 14^e, 28^e et 36^e jours.

La voie intradermique rend particulièrement manifeste la gravité des lésions locales obtenues avec des doses mêmes petites de bacilles tués (0,1 mgr.) lorsque ceux-ci sont enrobés dans l'huile de paraffine. Elle montre aussi qu'il suffit de 1 milligramme de bacilles dans 0 cc. 1 d'huile pour créer des lésions pulmonaires visibles à l'œil nu.

Voie péritonéale. — Cette voie a été étudiée par HAGAN et LÉVINE sur le cobaye ; ils ont obtenu des adhérences multiples, cloisonnant des abcès huileux, un fort épaississement du grand épiploon, bourré de petits abcès, et d'importantes métastases pulmonaires. Sur le lapin, nous avons observé des métastases pulmonaires particulièrement volumineuses.

Voie digestive. — SAENZ (103) a tenté de sensibiliser des cobayes à la tuberculine, par ingestion à la pipette de 3 cc. d'huile de vaseline, contenant 30 milligrammes de bacilles tués. Il y est parvenu, ainsi qu'à créer de petits foyers de broncho-pneumonie caséuse. Mais, ne trouvant pas d'adénopathies mésentériques, il en a conclu que l'huile de vaseline, destinée à l'œsophage, avait pénétré en partie dans la trachée et il a tiré de cette observation une méthode pratique d'injection intrapulmonaire de l'huile de vaseline à la pipette (99). Nous avons pu aisément nous rendre compte, en effet, que quelques heures après la tentative de gavage à la pipette par l'huile de paraffine colorée au Scharlach on retrouve celle-ci en abondance dans les poumons. Nous avons donc dû, pour éviter cette inhalation, mélanger notre émulsion à des carottes hachées, que nous avons fait manger sous nos yeux à des cobayes à jeun.

EXP. — Trois cobayes pesant 500 grammes ont ingéré ainsi en une fois 50 milligrammes de bacilles — pesés secs — dans l'huile de paraffine, trois autres, 50 milligrammes dans l'eau physiologique. Les intradermo-réactions à la tuberculine, pratiquées les 16^e, 21^e et 42^e jours, se sont toutes montrées négatives. L'autopsie, le 50^e jour, n'a rien révélé d'anormal, tant au niveau des ganglions mésentériques ou cœcaux, qu'au niveau des poumons.

L'huile de paraffine ne favorise donc pas le passage des bacilles tués à travers la muqueuse digestive des cobayes adultes.

Lésions obtenues avec des bactéries autres que le bacille bovin. — Rappelons brièvement que Mrs. THOMSON, HAGAN et LÉVINE ont obtenu avec des bacilles aviaires tués, et des acido-résistants saprophytes vivants, les mêmes lésions macroscopiques. Nous avons pu les constater aussi avec des bacilles tuberculeux humains tués. COULAUD, avec des bacilles morveux, qui ne sont pas acido-résistants, a également obtenu des métastases pulmonaires importantes (30). Mais celles-ci n'ont pas le même aspect microscopique que celles que nous avons décrites pour le bacille tuberculeux. Il s'agit d'abcès entourés d'une barrière fibreuse importante. Et ceci tend à démontrer que le microbe véhiculé donne une cer-

taine spécificité d'aspect aux lésions provoquées par les mélanges paraffinés.

B. C. G. — Il y a de même dans l'huile de paraffine un moyen de rendre apparemment virulent le *B. C. G.*

Exp. — Huit cobayes reçoivent, quatre sous la peau de la cuisse, quatre sous la peau de la nuque, 50 milligrammes de *B. C. G.* vivant, pesé humide, émulsionné dans 1 cc. d'huile de paraffine. Sacrifiés un mois après, on trouve un gros abcès local, contenant encore de l'huile, des ganglions inguinaux et sous-lombaires très gros et durs, *de nombreuses granulations grises vitreuses* au niveau des poumons, des ganglions trachéo-bronchiques légèrement hypertrophiés. Les granulations pulmonaires sont nettement plus nombreuses chez les cobayes inoculés dans la nuque. Les lésions ont le même aspect histologique que celles produites par des bacilles morts.

Il est à peine besoin de dire que le *B. C. G.* n'était pas devenu virulent. Tout d'abord la rate de nos animaux était normale. D'autre part leurs poumons granuleux réinoculés à trois cobayes, n'ont pu rendre ceux-ci tuberculeux, au bout de 75 jours, mais seulement sensibles à la tuberculine. Notons enfin que le pus huileux des abcès,ensemencé directement sur milieu de Loewenstein n'a pas donné de colonies visibles, alors que le même pus, ainsi que le tissu pulmonaire granuleux, ensemencés après traitement à l'acide sulfurique et à la soude, en ont donné de très nombreuses.

CHAPITRE II

LÉSIONS PRODUITES PAR LES BACILLES MORTS EN SUSPENSION DANS L'EAU PHYSIOLOGIQUE

« *Le caractère fondamental des lésions que provoquent les bacilles morts est qu'elles restent exclusivement localisées aux points où les bacilles ont été déposés dans l'organisme. Ceux-ci s'y retrouvent, avec leur aspect et leur réaction colorante spécifique, pendant plusieurs mois. C'est là dans l'histoire des microbes pathogènes une particularité remarquable et à peu près unique* ». (STRAUS et GAMALEIA).

Ces lésions ayant été bien étudiées par PRUDDEN et HODENPYL (84) puis par STRAUS et GAMALEIA (113) et par GRANCHER et LEDOUX-LEBARD (45) nous relaterons brièvement nos constatations personnelles, qui ajoutent peu aux leurs.

A. Lésions locales

par inoculation sous-cutanée ou intramusculaire

Cinq à quinze jours après l'inoculation de 10 milligrammes de bacilles (pesés secs) on peut palper un petit nodule, du volume d'un pois ; ce nodule se ramollit et peut suppurier pendant plusieurs semaines, plus rarement plusieurs mois. Généralement, au bout de trois mois, l'examen macroscopique ne révèle plus aucune altération. Si l'on prend soin de sacrifier les animaux sans attendre la tuméfaction palpable, on constate que le pus se forme très tôt. Dès la 48^e heure, on trouve dans le muscle une goutte de pus épais, constitué de polynucléaires, dont la plupart sont bourrés de bacilles. Il

reste relativement peu de bacilles libres. Dans les jours qui suivent, les coupes montrent que les polynucléaires s'entourent d'une zone de cellules épithélioïdes. Vers le 40^e jour, il n'y a plus de pus libre, mais seulement un nodule compact, formé de grandes plages épithélioïdes, infiltrées de polynucléaires dispersés ; les cellules mononuclées sont *bourrées de bacilles* ou de granulations acido-résistantes. Il y a de nombreuses cellules géantes et des petits foyers nécrotiques. Cette phagocytose intense, tant par les polynucléaires que par les macrophages, contraste singulièrement avec celle, minime ou inexistante, qu'on observe dans les abcès dus aux bacilles enrobés dans les paraffines.

B. — Lésions ganglionnaires

Lorsqu'on inocule les bacilles par voie sous-cutanée, les ganglions correspondants restent normaux ; tout au plus note-t-on dans de rares cas une tuméfaction et une hyperémie légère, mais jamais de pus ni de tubercules. (STRAUS et GAMALEIA). C'est également ce que nous avons constaté. Après l'inoculation intramusculaire, nous n'avons jamais noté, à l'autopsie, de modifications des ganglions régionaux, visible à l'œil nu. Cependant nous avons pu parfois palper une tuméfaction et une induration *minimes* des ganglions inguinaux : après inoculation sous-cutanée de 5 milligrammes de bacilles (dans un cas sur sept) et après inoculation intradermique de 1 milligramme de bacilles (dans 2 cas sur 3). Le microscope montrait seulement : une très légère hyperplasie du réticulum, infiltré de rares polynucléaires et de quelques gros macrophages remplis de pigments, ainsi que des sinus un peu dilatés et riches en polynucléaires. Ces lésions n'ont rien que de banal au voisinage d'un foyer inflammatoire et sont négligeables à côté des tuméfactions ganglionnaires considérables, *constamment* observées après inoculation des mêmes doses de bacilles enrobés dans l'huile de paraffine (1).

(1) Une fois cependant, nous avons vu de grandes plages épithélioïdes dans un ganglion sous-lombaire, quarante jours après inoculation des muscles de la cuisse, avec une suspension de bacilles morts en eau physiologique. On n'y voyait aucun bacille colorable.

Absence de migration des bacilles en suspension dans l'eau physiologique. — Il n'est pas étonnant que les inoculations sous-cutanées ou intramusculaires aqueuses ne donnent pas de lésions métastatiques : car les bacilles ne s'échappent pratiquement pas du foyer d'inoculation, du moins par voie lymphatique. Si l'on injecte la dose énorme de 10 milligrammes de bacilles pesés secs, suspendus dans 0 cc. 5 d'eau physiologique dans les muscles de la cuisse, on ne trouve les jours suivants, dans les frottis de la pulpe des ganglions inguinaux profonds et sous-lombaires, que quelques très rares unités bacillaires, les unes libres, les autres dans quelque macrophage. Ces migrations lymphatiques infimes avaient été vues par SAENZ et VAN DEINSE (104). Par contre, si l'on injecte la même dose dans l'huile de paraffine, on trouve dès la 48^e heure, sur les frottis des ganglions, de nombreuses zones circulaires claires, contenant chacune de un à une cinquantaine de bacilles. C'est donc par centaines ou milliers que les bacilles « paraffinés », dès les premiers jours, atteignent et traversent les ganglions régionaux.

C. — Lésions pulmonaires

Nous n'avons jamais observé de lésions pulmonaires, macroscopiques ni microscopiques, après inoculation intramusculaire ou sous-cutanée de 10 milligrammes de bacilles tués, suspendus dans 1 cc. d'eau physiologique. STRAUS n'a observé aucune lésion viscérale après des inoculations péritonéales importantes qui créaient de grosses lésions — granulations et abcès — sur la séreuse et particulièrement sur l'épiploon. Nous avons donc dû nous adresser à la voie veineuse pour étudier les lésions pulmonaires dues aux bacilles morts qui arrivent aux poumons par le même chemin que les bacilles échappés du foyer paraffiné, c'est-à-dire par l'artère pulmonaire.

Les lésions pulmonaires produites par *inoculation intra-veineuse* de bacilles morts varient considérablement avec les doses, et plus encore avec la qualité — fine ou grossière — de l'émulsion. STRAUS et GAMALEIA l'ont nettement montré. Ils ont pu provoquer, avec des émulsions grossières, une

éruption de granulations « ressemblant à s'y méprendre à des granulations tuberculeuses » (certaines avaient même un centre caséeux) mais leurs animaux — cobayes et lapins — sont tous morts en une à quatre semaines.

PRUDDEN et HODENPYL avaient déjà noté ces lésions, mais n'iaient la caséification. Ils n'ont pas assisté à la régression des lésions, car ils ne conservaient pas leurs animaux au delà du soixantième jour. Ils insistent sur la rapidité de la disparition des bacilles au sein des granulations.

BOQUET et NÈGRE (15) COULAUD (27), insistent sur la rareté des granulations macroscopiques produites chez le lapin par les injections intraveineuses de bacilles tués. Nous-mêmes, chez le cobaye, n'en avons observé aucune. C'est sans doute parce que nous avons voulu nous en tenir à des doses faibles, du même ordre que celles que nous injectons sous la peau.

EXP. — Des bacilles (souche Vallée, culture de 6 semaines sur Bouillon glyciné) séchés, sont rapidement et grossièrement émulsionnés au mortier dans l'eau physiologique, de manière à former des grumeaux de 5 à 50 microns de diamètre, c'est-à-dire du même ordre de grandeur que les grains de paraffine observés au niveau des poumons. 12 cobayes, pesant 500 grammes, de pelage blanc, reçoivent dans la *veine saphène* 1 cc. de cette émulsion, contenant, pour 6 d'entre eux 1 milligramme, pour 6 autres 5 milligrammes de bacilles pesés secs.

Éprouvés à la tuberculine les 10^e, 17^e, 32^e et 39^e jours, leurs intradermo-réactions sont restées strictement négatives, malgré un état florissant, ainsi que l'avaient constaté déjà PÉTROFF, BRANCH et JENNINGS, BRANCH et CUFF (1).

Nous avons sacrifié les cobayes après 10, 17, 37, 42 et 53 jours. Jamais nous n'avons observé de granulations sur leurs poumons. Ceux-ci avaient un aspect *normal* dans 6 cas. Dans 3 cas nous avons seulement trouvé une broncho-pneumonie localisée à l'un des lobes supérieurs, comme on en

(1) Chez le lapin, par contre, Straus et Gamaleia, Krompecher, Boquet et Nègre, Coulaud, ont créé l'hypersensibilité à la tuberculine par injection intraveineuse de bacilles morts, mais très irrégulièrement et d'autant mieux que l'émulsion était plus grossière.

trouve souvent chez des cobayes neufs sacrifiés en bonne santé apparente. Trois cobayes enfin sont morts de pneumonie accompagnée de pleurésie ou de péritonite à fausses membranes.

L'examen microscopique des lobes apparemment sains a montré des lésions diffuses mais très légères : au 11^e jour un épaississement généralisé de la trame, infiltré d'histiocytes ; par places de *très petits nodules* (le plus gros a 150×350 microns, la plupart ont environ 75 microns de diamètre) formés d'histiocytes et de très rares polynucléaires et sont dus à une réaction tant alvéolaire qu'interstitielle. Au 17^e jour les nodules histiocytaires sont plus rares, mais des amas lymphocytaires paravasculaires deviennent fréquents. Aux 38^e et 43^e jours, la trame n'est plus épaissie que par places, les nodules histiocytaires sont exceptionnels, les amas lymphocytaires assez nombreux.

Les *bacilles* sont très nombreux au 11^e et au 17^e jours ; on les trouve dans les nodules nettement constitués ou aux points de rencontre des cloisons alvéolaires épaissies, en petits groupes ou en amas importants rouge vif, nettement intracellulaires ; mais il y a un contraste frappant entre leur abondance et l'exiguité des lésions immédiatement voisines. Au 38^e et au 43^e jours, ils deviennent extrêmement rares. Au 53^e jour nous n'en avons plus trouvé.

Nous avons vu dans le foie quelques nodules histiocytaires, et dans la rate une hyperplasie réticulaire diffuse, sans organisation spécifique.

Donc même par injection intraveineuse, on n'obtient, avec des bacilles tués en suspension physiologique, que des lésions pulmonaires *microscopiques*, et *très passagères*, qui n'ont rien de comparable avec celles dues aux migrations des bacilles « paraffinés » déposés sous la peau.

D. — Conclusion

1^o Bien que les bacilles tuberculeux morts en suspension aqueuse soient remarquablement lentement résorbés ou éliminés, les lésions qu'ils produisent au lieu même où on les dépose sont beaucoup plus bénignes et moins durables que

celles que produisent les mêmes bacilles enrobés dans les paraffines. Peut-être nous objectera-t-on qu'au niveau des poumons, après injection intraveineuse, nous n'avons jamais observé d'amas bacillaires de la taille de ceux que la paraffine y charrie. C'est exact ; les grains de notre émulsion, pourtant grossière, se sont dissociés en route. Mais, par injection intra-musculaire, sous-cutanée et intradermique, les différences étaient aussi marquées, et pourtant il y avait bien alors, dans les deux véhicules, les mêmes quantités de bacilles.

2^o Les lésions à distance n'existent pas avec les bacilles en suspension aqueuse ; elles sont la règle avec les bacilles en suspension dans les paraffines.

3^o Quant aux phénomènes histologiques, ils ne sauraient être essentiellement différents ; l'inflammation n'a pas de multiples visages. Cependant l'importance de la phagocytose des bacilles en suspension aqueuse contraste avec la rareté de celle des bacilles en excipient paraffinique. Cette rareté est d'autant plus curieuse à noter que l'huile de paraffine et la paraffine solide pures ne sont pas réfractaires à la phagocytose par les macrophages ou les cellules géantes, ainsi que nous allons le voir.

CHAPITRE III

LÉSIONS ET MIGRATIONS OBSERVÉES APRÈS INJECTION DE PARAFFINE ET D'HUILE DE PARAFFINE PURES

Lorsqu'on a vu l'énorme ulcération produite par l'inoculation intradermique d'un milligramme de bacilles en suspension dans un dixième de cc. d'huile de paraffine, ou le ganglion, dont le volume atteint jusqu'à dix fois son volume normal, situé au voisinage de l'inoculation, ou encore la vaste plage d'alvéolite, dont le diamètre atteint dix à vingt fois celui de la goutte d'huile bacillifère qui en est cause, alors que des bacilles morts en suspension aqueuse, donnent les lésions si minimes, on est prêt à imaginer que la paraffine solide ou l'huile de paraffine sont par elles-mêmes capables de créer une inflammation considérable. Or il n'en est rien. Si l'art de la chirurgie esthétique a choisi la paraffine pour remodeler les tissus relâchés, c'est précisément à cause de la tolérance remarquable des tissus pour ce carbure. Quant à l'huile de paraffine, elle est, d'après F. SABIN, DOAN et FORKNER (97) un excipient remarquablement inerte. La réaction minime qu'elle provoque en fait un support de choix pour introduire dans l'organisme des substances insolubles dans l'eau. Ces auteurs l'ont utilisée pour étudier l'action des acides gras et des cires du bacille tuberculeux. En effet, injectée jusqu'à 12 fois, à raison de 0 cc. 5 par jour, dans le péritoine du lapin, elle ne provoque qu'un très léger épaissement du grand épiploon. Histologiquement, ils ont constaté la stimulation du tissu conjonctif (histiocytes et fibrocytes) et par places de nombreuses cellules géantes à corps

étrangers, mais *aucune réaction épithélioïde*, comme on en observe après injection d'huile d'olive dans le péritoine.

Il ne saurait être question ici d'oublier les énormes fausses tumeurs dites paraffinomes. Mais les conditions d'apparition de celles-ci sont tout autres : il s'agit de nouures apparues de *longs mois* après une *série* d'injections d'huile *médicamenteuse* dans une même région du corps.

De plus, en comparaison des milliers d'injections pratiquées, le nombre des paraffinomes est très restreint. Cette inconstance de la réaction traduit l'existence d'un autre facteur que la simple présence de paraffine liquide dans les tissus. LE CARPENTIER-DUBOSQ (67) rappelle que d'après BALZER, ces indurations se produiraient surtout chez les tuberculeux, et que, pour GOUGEROT et DESAUX, elles exigeraient soit un terrain particulier, soit une infection surajoutée. Ces auteurs ont isolé une fois un bacille de Koch d'une telle tumeur. Quelle qu'en soit la cause déterminante et malgré le nombre de travaux qu'il a suscités (en particulier les thèses de BRISSY, PIÉCHAUD, RIVAL, LE CARPENTIER-DUBOSQ et les études anatomiques de JACOB, FAURÉ-FRÉMIET, NAGEOTTE, LETULLE) le paraffinome n'est pas la réponse normale des tissus à la paraffine solide ou liquide. C'est uniquement cette réponse normale, celle des premières semaines, qui nous intéresse, et en particulier la propagation lymphatique des produits injectés.

Quant aux migrations de l'huile de paraffine dans les espaces conjonctifs, en dehors des voies lymphatiques, elles sont bien connues, depuis JUCKUFF (53). Cet auteur injectait des doses énormes (10 à 100 cc.) qui n'ont rien à voir avec les nôtres, et retrouvait l'huile jusque dans la cavité péritonéale.

A. — Lésions locales

§ 1. — *Paraffine solide*

On a souvent dit que le tissu conjonctif avait le pouvoir d'attaquer la paraffine et de la morceler en un grand nombre de grains qu'il enkystait. Or SAKURANE dès 1907 (105) s'élève contre cette interprétation. Il insiste sur les failles qui se pro-

duisent au moment de la congélation de la paraffine sous la peau ; c'est par ces failles que le tissu conjonctif pourrait proliférer. En effet des blocs de paraffine introduits tels quels, à froid, sous la peau, ne subissent pratiquement aucune attaque des cellules. Nous ajouterons qu'au moment où on injecte la paraffine fondue, elle s'infiltré, comme un liquide, dans de nombreuses directions, et qu'il est naturel de retrouver plus tard, non un bloc unique, mais de nombreuses sphérules enkystées. C'est sans doute à ces deux facteurs (failles et dispersion à l'état liquide) qu'il faut attribuer le morcellement en de nombreuses logettes, qu'on observe souvent. Ce morcellement n'est d'ailleurs pas constant, après injection de paraffine fondue. Nous avons injecté 8 cobayes sous la peau, soit de la nuque, soit de la cuisse, avec 1 à 2 cc. de paraffine (fondant à 42-44°) ; nous les avons sacrifiés 15, 21, 31 et 110 jours plus tard. Nous avons retrouvé le bloc inattaqué, tantôt libre, plus souvent entouré d'une mince membrane, glissant sur la paraffine et sur les plans superficiels. A côté du bloc principal se trouvaient quelques grains isolés.

L'examen microscopique, après 15 ou 30 jours, montre une ou deux grandes logettes centrales, larges de 5 à 10 millimètres, entourées d'une multitude de logettes filles, dont la taille décroît à mesure qu'on s'éloigne du centre. D'où un aspect alvéolaire, où il y a beaucoup plus de vides que de pleins.

Les parois des petits kystes sont généralement très minces. Parfois il n'y en a pas, et le trou semble creusé en plein muscle. Ailleurs, la logette n'est séparée des logettes voisines que par un fin trousseau collagène contenant deux ou trois assises de noyaux fusiformes. Plus souvent ce squelette fibreux est doublé d'une assise de cellules mononuclées, à gros noyaux clairs, d'aspect épithélioïde. Ces cellules forment par place des syncytiums richement vacuolaires, qui s'individualisent parfois en belles cellules géantes. Ces syncytiums semblent souvent combler une logette : cette image représente probablement des parois coupées tangentielllement, et non l'envahissement réel d'une logette.

Enfin sur le revêtement interne des plus grands kystes

nous avons vu un grand nombre de macrophages bien individualisés, creusés de multiples vacuoles claires. Il est possible qu'ils aient réellement attaqué et phagocyté la paraffine. Mais il nous est impossible de l'affirmer, en l'absence d'études microchimiques. De plus les phénomènes de stéato-nécrose qui peuvent accompagner l'arrivée de paraffine chaude dans les tissus, peuvent expliquer cette abondance de vacuoles. Les polynucléaires sont exceptionnels.

Bref ces lésions ressemblent fort à celles qui sont produites par l'huile de paraffine, et peuvent être caractérisées ainsi : enkystement fibreux, infiltration cellulaire minime.

§ 2. — *Huile de Paraffine*

Injectée sous la peau ou dans le muscle, l'huile diffuse facilement, et on ne retrouve, après un mois, que des tissus légèrement huileux ; les muscles, qui avant l'autopsie étaient durs et gros, ne montrent rien d'anormal à l'œil nu. Tout au plus note-t-on que les amas graisseux normaux, intermusculaires ou inguinaux, sont plus volumineux. A la coupe on y trouve en effet de nombreuses logettes entourées d'un tissu conjonctif lâche et de quelques cellules géantes. *L'injection intra-dermique* permet en localisant mieux l'huile, de suivre les réactions cellulaires.

EXP. — Nous avons injecté *dans le derme* de neuf cobayes (3 neufs, 4 sensibilisés à la tuberculine par l'huile de paraffine bacillifère, 2 tuberculeux) 0 cc. 1 d'huile de paraffine stérilisée. Chez tous nous avons observé les deux premiers jours une papule dure, blanche, anémique ; au 6^e jour la papule, rose, devient plus saillante ; — chez deux cobayes elle laisse sourdre une goutte de sérosité, vite remplacée par une minuscule croûte ; au 10^e jour il ne reste qu'une infiltration infime, à peine saillante, de la couleur de la peau, d'un diamètre de 5 à 8 millimètres, souple.

La peau, prélevée au bout d'un mois, et coupée, ne montre aucune ulcération épidermique. Elle est légèrement épaissie par la présence de nombreuses logettes, situées dans toute l'épaisseur du derme jusqu'au contact du muscle peaucier, ou même dans celui-ci. Ces logettes sont tapissées d'une paroi

très mince, formées de faisceaux collagènes et d'une seule assise de cellules allongées et aplaties, sans aucune organisation épithélioïde, ou de cellules géantes à noyaux et à vacuoles disséminées irrégulièrement dans tout le cytoplasme. Certaines de ces cellules semblent occuper une partie d'une logette, d'autres occuper les interstices entre celles-ci. Il s'agit tantôt d'éléments bien individualisés, possédant de 2 à 6 ou 8 noyaux, entourant une ou plusieurs vacuoles nettement intracellulaires ; tantôt de grands syncytiums allongés, richement vacuolaires aussi, étalés sur le fond d'une logette

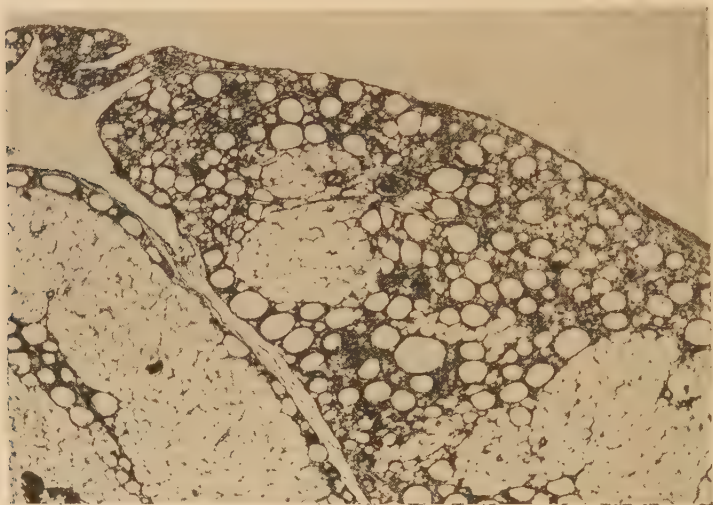


FIG. 14.

dont ils tendent à embrasser le contenu. Ces deux éléments (« plasmodes spumeux » décrits par FAURÉ-FRÉMIET (37) ne se trouvent qu'exceptionnellement dans les lésions produites par l'huile de paraffine bacillifère.

Vis-à-vis de l'huile pure, la tolérance des tissus est donc remarquable ; tout se borne à des phénomènes d'enkystement par macrophagie, sans réaction de voisinage. Les infiltrations à polynucléaires sont minimales et irrégulièrement distribuées ; elles manquent totalement par places et semblent contingentes. Le collagène préexistant dans le derme normal

est à peine augmenté, — du moins à cette période. Il est seulement dissocié par les nombreuses gouttes d'huile.

La figure 14 rend évidente cette tolérance. Elle représente un épiploon de cobaye, sacrifié quatre mois après l'inoculation de 5 cc. d'huile de paraffine pure dans le péritoine. On distingue nettement les nappes de cellules adipeuses, à membrane très fine, des nappes alvéolaires formées autour des gouttes d'huile. Le tissu de néoformation occupe moins de surface que l'huile enkystée par lui. Les ganglions sous-hépatiques contenaient de nombreuses lacunes analogues.

B. — Lésions ganglionnaires

Les migrations lymphatiques des paraffines ont peu retenu l'attention des auteurs. SAKURANE les a notées chez le porc, pour la paraffine liquide. Récemment, SALEY, WILLIS et ELLWARN (106) ont retrouvé de l'huile de paraffine dans les ganglions rétrosternaux et trachéo-bronchiques de lapins sur lesquels ils avaient pratiqué des oléothorax expérimentaux. FAVRE et CIVATTE (38) ont observé chez l'homme, à proximité d'un paraffinome d'aspect lupique, un ganglion axillaire qui présentait des lésions semblables à celles du foyer original, et très voisines de celles que nous avons décrites comme dues à l'huile bacillifère.

Nous avons méthodiquement recherché ces migrations ; elles sont très importantes, mais les lésions qu'elles provoquent sont minimes.

1. *Paraffine solide*. — Les ganglions voisins de l'inoculation semblent normaux à l'œil nu.

Mais les coupes à la congélation ont permis de déceler, dans ces ganglions, *de nombreux grains de paraffine*. Ceux-ci avaient creusé des trous en pleine zone lymphocytaire, sans y créer aucune réaction inflammatoire, quinze jours ou trois mois après l'injection de paraffine. Certains trous n'étaient limités que par les lymphocytes eux-mêmes, d'autres par une assise endothéliale unique. Très rarement cette assise s'était dédoublée. Par places, là où le polariseur faisait briller de nombreux grains très fins, on voyait de nombreux macrophages

vacuolaires, dont chacun contenait un grain biréfringent. Mais ces macrophages n'avaient aucune tendance à former ces couronnes épithélioïdes ou fibreuses que nous avons vu entourer les lacunes, lorsqu'il s'agissait de paraffine bacillifère. Les grains étaient nettement moins gros que ceux que nous avons rencontrés dans les ganglions au voisinage d'un foyer de paraffine bacillifère.

2. *Huile de paraffine.* — Après injection intramusculaire, nous avons noté 2 fois sur 13 une très légère hypertrophie du ganglion sous-lombaire. Après injection intradermique, nous

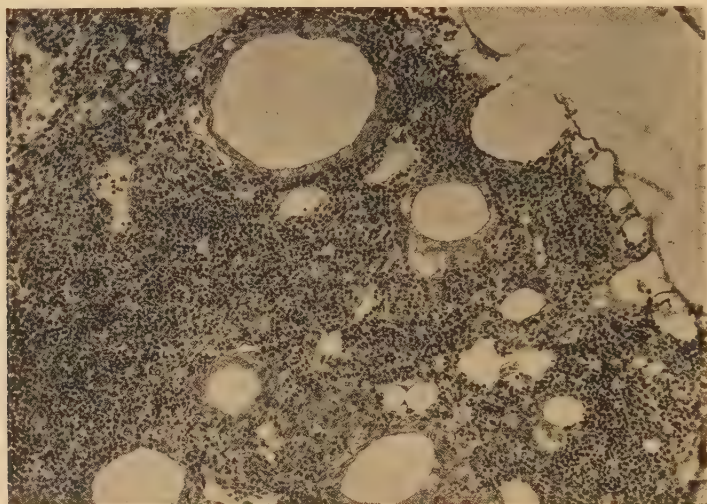


FIG. 15. — Ganglion sous-lombaire 40 jours après inoculation d'huile de paraffine pure dans les muscles de la cuisse.

n'avons jamais noté d'hypertrophie du ganglion régional. Mais, même dans les ganglions d'aspect normal, la congélation a permis de déceler des lacunes souvent visibles à l'œil nu et des gouttes d'huile de paraffine ; *lacunes sans aucune réaction inflammatoire* : dilatations ampullaires du sinus marginal et simples trous au milieu de lymphocytes normaux, même un mois après l'injection d'huile. Ces trous sont parfois occupés ou bordés par une cellule géante aplatie, à noyaux et à vacuoles dissimulées, semblables à ceux que nous

avons vu dans le derme. *Plus tard* cependant, on peut voir dans les ganglions de très petites plages épithélioïdes. Mais cette réaction est minime par rapport à l'importance des lacunes voisines, et ne saurait se comparer aux énormes plages épithélioïdes qui se constituent en quelques jours autour de quelques gouttes d'huile de paraffine bacillifère.

Nous avons photographié (fig. 15) une des zones les plus riches en cellules épithélioïdes. On voit que cette réaction est minime, malgré l'importance des lacunes.

C. — Lésions pulmonaires

Nous n'avons jamais trouvé de lésions pulmonaires visibles à l'œil nu, après injection de 1 à 2 cc. de paraffine solide ou liquide sous la peau. Nous admettons cependant que ces produits peuvent gagner le poumon, en quittant le ganglion où nous les avons trouvés en si grande abondance. Quoiqu'il en soit, il fallait connaître, après l'action des paraffines bacillifères, l'action des paraffines pures sur les poumons. Nous avons dans ce but injecté de l'huile de paraffine par voie veineuse.

EXP. — A 6 cobayes nous avons injecté, par la veine saphène, 0 cc. 1 d'huile de paraffine grossièrement émulsionnée dans 0 cc. 9 d'eau physiologique additionnée de gomme adragante (0,25 gr. pour 10 cc). Nous avons sacrifié les animaux 2, 14, 18, 21 et 33 jours après. *Leurs poumons étaient normaux à l'œil nu*, à part quelques très rares petites taches rouges dues à des infarctus.

Le microscope y montrait cependant des gouttes d'huile plus volumineuses et plus nombreuses que dans les poumons de cobayes inoculés par la voie sous-cutanée avec de l'huile bacillifère. L'inoculation a d'ailleurs créé des désordres graves : la trame, du 3^e au 22^e jour, est épaissie d'une façon diffuse. Les cloisons alvéolaires ont souvent quatre fois leur épaisseur normale, et peuvent, par place, étouffer les alvéoles ⁽¹⁾. Mais nulle part, même autour des bouquets de

(1) Ces lésions rappellent les lésions strictement interstitielles décrites par Le Moignic et Sézary (69) à la suite d'injections intraveineuses d'huile d'olive.

vaisseaux pleins d'huile, on ne note la formation d'un nodule bien limité, ordonné par rapport à la goutte d'huile. Au contraire, on voit souvent de très grosses gouttes dans une cloison à peine épaissie. Les lésions les plus compactes se trouvent au niveau des infarctus : les alvéoles sont pleins de globules rouges infiltrés de polynucléaires.

D. — Conclusion

Ainsi l'huile de paraffine pure, et la paraffine pure sont bien capables de pénétrer les lymphatiques et d'atteindre le ganglion voisin — et, vraisemblablement, de le traverser. Mais elles créent au niveau de ces ganglions des lésions presque purement mécaniques. Au niveau de la peau ou des muscles, elles n'appellent que quelques macrophages et des cellules géantes à corps étrangers, au moins dans les premières semaines. Au niveau du poumon, l'huile de paraffine provoque un épaississement de la trame, mais aucune lésion nodulaire. Nous pouvons donc considérer ces corps comme remarquablement inertes ; leur action propre ne suffit pas, de loin, à expliquer les lésions que nous avons décrites au chapitre I.

CHAPITRE IV

MÉCANISME DES LÉSIONS ET DES MIGRATIONS OBSERVÉES APRÈS INOCULATION DE PARAFFINES BACILLIFÈRES

A. — Trajet suivi par les bacilles migrants

Nous avons retrouvé les bacilles dans les logettes de l'abcès local, dans les lymphatiques du même abcès, dans le sinus périphérique, puis dans les sinus médullaires des ganglions voisins, enfin dans les capillaires pulmonaires. Nous admettons donc que les bacilles ont suivi les lymphatiques se rendant dans le système veineux, et de là par la veine cave supérieure et l'artère pulmonaire, se sont rendus jusque dans le poumon. Il est inutile, pour nos cobayes inoculés dans la nuque, d'invoquer ici une voie purement lymphatique, rétrograde, cervico-pulmonaire. La possibilité anatomique de cette voie, chez les cobayes, est niée par KRAUSE (58), et par ROUVIÈRE (96), mais SERGENT et GASPARD (109) semblent bien en avoir démontré l'existence. L'encre de Chine et le lipiodol injectés par eux dans les ganglions paratrachéaux cervicaux, ont migré vers les ganglions rétrosternaux, et de là dans les ganglions trachéobronchiques. Mais rien ne nous autorise à penser que cette voie a été suivie dans nos expériences. Dans celles-ci, en effet, c'est le ganglion nuchal, dit encore cervical superficiel, qui a été le plus souvent infecté, et non le ganglion paratrachéal. D'autre part, nous n'avons trouvé qu'une seule fois des lésions des ganglions rétrosternaux : quant aux trachéobronchiques, ils n'ont montré dans les premières semaines que des lésions extrêmement discrètes, ne rappelant

en rien les lésions si caractéristiques des ganglions voisins de l'abcès, et qui s'expliquent bien mieux par l'arrivée de quelques bacilles échappés du filtre pulmonaire que par l'arrivée de masses bacillaires destinées aux poumons.

Par contre, il n'est pas impossible que dans quelques cas les migrations aient suivi depuis l'abcès lui-même, ou au moins à partir du premier relai ganglionnaire, une voie purement veineuse. En effet, d'une part, nous avons vu parfois, bien que rarement, des bacilles nombreux dans une coupe de vaisseau contenant des globules rouges, soit dans l'abcès lui-même, soit dans la capsule d'un ganglion ; d'autre part, en pratiquant des injections de bleu de méthylène dans les ganglions, il nous est arrivé de voir le colorant filer à la fois dans les lymphatiques efférents et dans la veine du ganglion. généralement il est vrai après que le ganglion eut été fortement distendu par de l'air injecté simultanément, et qu'on voyait fuser rapidement dans la veine. Mais seule la voie lymphatique nous semble jusqu'ici bien évidente.

B. — Mécanisme des migrations

Mécanisme des migrations. Quand on a vu le volume que peuvent atteindre les lymphatiques dilatés par de telles injections, on ne s'étonne plus que de grosses particules liquides et même solides puissent progresser dans leur lumière. Par contre, si l'on songe que les lymphatiques sont des culs de sac, plongeant en doigt de gant dans les espaces intercellulaires, et sont constitués par un endothélium qui ne présente aucune solution de continuité, on comprend bien difficilement la *pénétration* de grosses particules à leur intérieur. A vrai dire c'est là une question très mal connue. KRAUSE en souligne les obscurités et pense que l'intervention d'un leucocyte vecteur est nécessaire. La taille des morceaux de paraffine retrouvés dans les ganglions n'est pas compatible avec cette hypothèse. ROUVIÈRE et VALETTE montrent que « des gouttelettes d'une suspension de bleu de Prusse dans l'huile d'olive, des grains très fins d'encre de Chine, et des grains d'amidon atteignant jusqu'à 50 microns de diamètre, peuvent

pénétrer spontanément dans les capillaires lymphatiques alors qu'aucune manipulation n'a pu modifier la texture normale des tissus ». Mais ils notent que « la différence qui existe entre le petit nombre de fines granulations d'encre de Chine, et le grand nombre de volumineuses gouttes d'huile (atteignant 8 microns de diamètre) qui ont pénétré dans les lymphatiques est une preuve que la réaction des cellules endothéliales n'est pas seulement liée aux dimensions des particules qui arrivent à leur contact, mais également à leurs propriétés physiques et chimiques ».

Pour ce qui est de l'huile de paraffine, et surtout de la paraffine solide, nous avons noté que le transport vers le ganglion était beaucoup plus grand dans le cas de mélange bacillisé que dans celui d'huile ou de paraffine pure. Ceci nous conduit à admettre que l'inflammation considérable au lieu de l'injection favorise nettement l'introduction de particules dans les lymphatiques ⁽¹⁾, qui sont peut-être même pénétrés par effraction, et qui, comme toujours au niveau des foyers inflammatoires, sont fortement dilatés.

En résumé, pour éclairer le mécanisme des migrations par voie lymphatique, il semble que nous devions nous borner pour l'instant à constater les faits suivants :

Les bacilles morts, en suspension physiologique, ont une très faible tendance à quitter le lieu de l'inoculation ; s'ils le font, c'est seulement par unités bacillaires incapables de créer, même dans le ganglion immédiatement voisin, de lésions importantes.

La paraffine solide, même lorsqu'elle n'a pas subi de morcellement évident, visible à l'œil nu, émet de nombreuses particules, qu'on retrouve dans le ganglion voisin. Là, selon leurs dimensions, elles creusent de petits trous en pleine corticale, ou se laissent englober par un macrophage.

L'huile de paraffine se retrouve de même, et en plus grande quantité que la paraffine solide, dans le ganglion voisin. Toutes deux n'y créent pratiquement aucune lésion inflammatoire.

(1) Du moins au début. Plus tard les phénomènes d'enkystement de lymphangite et d'adénite ont probablement l'effet contraire.

Quant aux bacilles morts enrobés dans ces excipients, ils profitent de la tendance migratrice spontanée de leur support ; de plus, ils provoquent une inflammation intense au siège de l'inoculation. Cette inflammation facilite considérablement cette tendance, et le vecteur pénètre les lymphatiques sous forme de grains ou de gouttes plus nombreux et plus volumineux.

Enfin ces grains ou ces gouttes s'opposent à l'émiettement de l'amas bacillaire qu'ils représentent, et permettent ainsi aux bacilles d'arriver en groupes nombreux et compacts jusque dans les capillaires pulmonaires.

Expériences de S. MUDD et E. MUDD. Pour expliquer l'essai-mage à distance des bacilles de Koch enrobés dans l'huile de paraffine, HAGAN et LEVINE invoquent les expériences de S. et E. MUDD (74, 75). Ces auteurs ont montré que si des bacilles *acido-résistants* ont le choix entre deux phases, l'une aqueuse, l'autre huileuse, ils choisissent — sous l'action de la tension superficielle — la phase huileuse. Ceci peut se voir entre lame et lamelle sous le microscope, ou, comme l'ont fait REED et RICE (86) à l'œil nu, dans un tube à essai. HAGAN et LEVINE suggèrent que, les bacilles étant mieux mouillés par l'huile que par l'eau, ils s'entourent d'une coque huileuse qui les « protège » et leur permet de traverser aisément les filtres ganglionnaires. Nous ne pensons pas que les expériences de S. et E. MUDD puissent servir jusqu'ici d'explication au phénomène de migration observé par HAGAN et LEVINE. En effet, ce choix de la phase huileuse par le micro-organisme — vivant ou mort — opposerait, pour les MUDD, les bacilles acido-résistants aux autres ; or des bacilles non acido-résistants, ceux de la morve par exemple (COULAUD) peuvent migrer en quantité grâce à la paraffine (1). D'autre part il semble très abusif d'assimiler le tissu conjonctif, musculaire ou ganglionnaire, à la « phase aqueuse » des MUDD, constituée dans les expériences *in vitro* par de l'eau physiologique.

(1) De plus, pour E. et S. Mudd, cette propriété s'appliquerait au bacille bovin — rugueux ou lisse — et à l'aviaire, mais pas à l'humain ni au B. C. G. Dans des expériences analogues, sommaires il est vrai, nous n'avons pas retrouvé cette opposition.

Néanmoins le mot de « protection » employé par HAGAN et LEVINE, évoque avec justesse ce qu'on observe au microscope. Au point d'inoculation, les bacilles dans l'huile sont à peine phagocytés. S'ils le sont, on les retrouve, dans les leucocytes à l'intérieur d'une grande vacuole claire ; dans les frottis de ganglion, on les voit, non pas épars entre les lymphocytes, mais dans des gouttes bien arrondies pouvant contenir une centaine de bacilles. Enfin, si l'on en croit la grande rareté des bacilles colorables dans les tissus — ganglionnaires ou pulmonaires — entourant la lacune qui représente leur point d'arrivée, les bacilles ont une forte tendance à rester dans leur vecteur ou à la limite de celui-ci avec les tissus.

C. — Mécanisme des lésions

Comment alors ces bacilles morts ne sécrétant aucune toxine, arrivent-ils à provoquer des lésions tellement différentes de celles produites par leur support paraffiné ? C'est là une question à laquelle nous ne pouvons répondre. Pour la résoudre nous avons tenté de savoir si l'huile de paraffine ne se chargerait pas, au contact des bacilles, de quelque principe pathogène — et sensibilisant à la tuberculine. Nos essais ont été infructueux. Nous croyons bon néanmoins de les relater.

§ 1. — *Filtrat d'huile de paraffine bacillifère*

EXP. — Nous avons émulsionné 60 centigrammes de bacilles pesés secs (souche bovine Vallée, culture sur bouillon glycérimé de 6 semaines, filtrée, lavée sur filtre à l'eau distillée, séchée à l'étuve) dans 50 cc. d'huile de paraffine Poulenc ; après agitation mécanique au ballon à billes, pendant 15 minutes, nous avons mis ce ballon à l'étuve pendant 48 heures. Nouvelle agitation ; première filtration sur filtre de Büchner ; seconde filtration sur bougie 5L2, sous une dépression de 50 centimètres de Hg. Durée de la filtration : 30 minutes ; on obtient environ 25 cc. de filtrat, dont 1 cc. correspond à 12 milligrammes de bacilles.

Le *pouvoir tuberculinique* de ce filtrat est nul :

Exp. — Deux cobayes rendus allergiques par de la paraffine bacillifère, et trois cobayes tuberculeux, inoculés deux mois auparavant, reçoivent dans le derme : au niveau du thorax 0 cc. 1 de filtrat, au niveau du flanc 0 cc. 1 d'émulsion-mère non filtrée. Celle-ci provoque un phénomène de Koch typique. Le filtrat fait apparaître une papule minime, exactement semblable à celle créée par l'injection intradermique de l'huile de paraffine pure.

C'est ce que montre l'expérience suivante :

Exp. — Trois cobayes neufs, cinq cobayes rendus allergiques par de l'huile de paraffine ou de la paraffine bacillifères, et deux cobayes tuberculeux depuis deux mois, pesant de 350 à 450 grammes reçoivent dans le derme du flanc : à droite 0 cc. 1 de filtrat, à gauche 0, cc. 1 d'huile de paraffine pure. Toutes les injections provoquent l'apparition de papules identiques, de la couleur de la peau, assez fortement saillante vers le 7^{ème} jour, puis décroissant rapidement d'épaisseur pour ne plus être au 20^{ème} jour qu'une légère infiltration de 5 mm de diamètre.

L'examen microscopique au 30^e jour a montré exactement les mêmes images à droite et à gauche, chez les cobayes sains. Il n'a pas été pratiqué chez les cobayes tuberculeux.

Cet examen montre aussi que le *pouvoir pathogène* du filtrat est le même que celui de l'huile de paraffine pure.

Le filtrat n'a aucun *pouvoir sensibilisant* :

Exp. — Cinq cobayes de 450 grammes reçoivent 1 cc. de filtrat dans la cuisse droite ; deux cobayes par voie sous-cutanée ; trois par voie intramusculaire. Eprouvés les 13^e, 21^e et 31^e jours avec 0 cc. 1 de tuberculine diluée au dixième, toutes leurs intradermo-réactions restent négatives. Sacrifiés le 35^e jour, ils montrent de minimes modifications identiques à celles que nous avons décrites au chapitre de l'huile de paraffine pure. Le ganglion sous-lombaire droit est, 2 fois sur 5, légèrement plus gros que le gauche. Le microscope y montre de très grosses lacunes sans aucune réaction inflammatoire.

Le filtrat se comporte donc exactement comme de l'huile de paraffine pure.

Nous ne pensons pas que cette unique essai épuise la

question de la solubilité des substances bacillaires dans l'huile de paraffine. C'est là un sujet que nous n'avons pu aborder, mais il n'est pas impossible que la chimie nous donne un jour des réponses plus satisfaisantes que l'anatomie pathologique seule.

§ 2. — *Phénomène de Koch par huile bacillifère*

Si l'huile de paraffine, telle que nous l'avons traitée et éprouvée, n'acquiert au contact des bacilles morts aucune propriété pathogène nouvelle, n'aurait-elle pas le pouvoir d'augmenter de quelque manière l'intimité du bacille avec l'organisme ? Ou bien, au contraire, l'isole-t-elle des tissus environnants ?

Nous nous sommes déjà posé cette question en considérant des bacilles, inaltérés, dans leur logette, ou sur ses bords, et en leur comparant les vastes zones épithélioïdes entourant la logette. Nous avons tenté d'attaquer le problème en étudiant le pouvoir réactionnel de l'huile bacillifère sur le cobaye allergique.

EXP. — Quatre cobayes de 450 grammes ayant reçu huit semaines auparavant un même produit bacillifère virulent, reçoivent *dans le derme* du flanc 0 mgr. 1 de bacilles Vallée pesés secs, à droite en suspension dans 0 cc. 1 d'eau physiologique, à gauche dans 0 cc. 1 d'huile de paraffine. Chez les quatre cobayes les phénomènes se sont déroulés avec un parallélisme parfait :

Au bout de 24 heures : cocarde blanche infiltrée, centrée d'un point ecchymotique ou nécrotique ; au bout de 48 heures, l'infiltration périnécrotique s'élargit, rougit, et la nécrose gagne en largeur ; au 6^e jour l'escarre tombe, laissant une ulcération entourée d'un bourrelet rouge ; — *mais, dès le début, nécrose et infiltration ont été deux ou trois fois plus larges à gauche qu'à droite, et le bourrelet nettement plus épais.* La plaque nécrotique n'a jamais dépassé 4 millimètres à droite, et a atteint 10 millimètres à gauche. Au 13^e jour, le côté droit avait retrouvé sa souplesse ; il ne restait qu'une croûte ; à gauche, cette croûte était encore entourée d'une bourrelet net.

Le phénomène de Koch intradermique a donc été *au moins deux fois plus intense* avec l'huile qu'avec l'eau physiologique

bacillifère. Mais nous avons observé des différences plus marquées encore chez le *cobaye neuf*, entre deux injections intradermiques de bacilles, l'une huileuse, l'autre aqueuse. L'injection huileuse avait provoqué des phénomènes inflammatoires et nécrotiques si importants qu'ils rappelaient un phénomène de Koch à guérison particulièrement lente. On doit alors se demander si, dans ces inoculations intradermiques, la distension locale durable créée du côté de l'injection huileuse n'aggrave pas considérablement les lésions, indépendamment de l'hypersensibilité de l'organisme aux bacilles. Nous avons donc étudié le phénomène de Koch *par voie sous-cutanée* :

EXP. — A huit cobayes fortement allergiques nous avons injecté sous la peau du flanc :

à droite 10 à 60 milligrammes de bacilles tués (pesés secs) en suspension dans l'eau physiologique (1/2 à 1 cc.) ;

à gauche, la même dose de bacilles tués en suspension dans le même volume d'huile de paraffine.

Chez deux cobayes nous avons obtenu à droite un phénomène de Koch typique, avec escarre. Les autres ont présenté à droite, dès la 24^e heure, une tuméfaction très dure, grosse comme une pièce de 5 francs, qui s'est ramollie vers le 8^e jour.

A gauche nous n'avons jamais obtenu de phénomène de Koch. L'induration ne s'est produite qu'au quatrième jour, et n'a atteint le volume de celle de droite qu'à partir du quinzième jour.

De même, des bacilles enrobés dans l'huile de paraffine n'ont pas provoqué de péritonite allergique aiguë, mais une péritonite chronique.

Sans doute n'explorons nous, par ces procédés, que le pouvoir tuberculinique de la suspension injectée (A. BOQUET). Néanmoins ils semblent montrer que l'huile de paraffine *isole* le bacille, au moins pendant les premiers jours, des tissus qui l'entourent.

CHAPITRE V

CONCLUSION

Nous pouvons maintenant analyser l'influence de l'enrobage paraffiné sur les effets anatomiques des bacilles tuberculeux morts.

1^o *L'huile de paraffine est-elle un « excipient irrésorbable » ?* H. VALLÉE lui a donné ce qualificatif et l'a choisie à ce titre, pour préparer les suspensions d'un bacille vaccin avirulent, et obtenir ainsi « le vaccin qui offrirait la plus grande lenteur de résorption » (121). SAENZ (99, 100) pense que VALLÉE avait cherché « une résorption et une dispersion plus lente de l'antigène dans l'organisme », et il s'élève contre l'hypothèse d'un « retard de l'absorption après enrobage huileux ». Il montre en effet que chez le cobaye, des bacilles *virulents*, inoculés sous la peau en suspension dans l'huile de paraffine sont cultivables à partir de la rate, dans les mêmes délais que des bacilles inoculés en suspension aqueuse.

Il est vrai que VALLÉE a cru au début que les bacilles ne pouvaient essaimer à partir de la lésion paraffinée, mais ce qui importait à ses yeux, ce n'était pas d'obtenir « une dispersion plus lente de l'antigène dans l'organisme », comme on le lui a fait dire. C'était d'obtenir un vaccin qui ne fut pas détruit (ou expulsé) *par* l'organisme, et une lésion « persistante », « active » et « irrésorbable » (119). Et c'est bien ce que permet l'huile de paraffine. Elle n'empêche par la dispersion de l'antigène dans l'organisme, mais elle retarde la destruction, par les cellules de l'organisme, des bacilles restés sur place, et leur expulsion. Le bacille avirulent dont se sert H. VALLÉE, inoculé sous la peau des bovidés, crée, en suspension aqueuse, une lésion qui guérit totalement en trois mois ; en suspension dans l'huile de paraffine, une lésion qui

persiste plus de deux ans (121). Il est donc fort légitime de parler de lésion irrésorbable.

2^o *Les excipients paraffinés favorisent les migrations des bacilles morts vers les ganglions lymphatiques et les poumons.* Nous n'y insisterons plus. Nous venons de voir que cette propriété n'est pas contradictoire avec celle d'« excipient irrésorbable ».

3^o *L'inoculation unique de bacilles enrobés équivaut à une série de petites inoculations successives.* En effet, on doit imaginer que le morcellement des grains ou des gouttes de paraffine, de même que leur arrivée en des points de l'organisme jusqu'alors indemnes, met chaque fois en contact avec les tissus, des bacilles qui étaient restés cachés et inactifs au sein du grain ou de la goutte. Il y a là une utilisation progressive et discontinue de l'antigène.

4^o *L'excipient isole, dans une certaine mesure, le bacille des tissus qui l'environnent.* C'est ce dont témoignent la persistance prolongée du bacille dans les lésions, la rareté des images de phagocytose, la lenteur de la réaction des tissus normaux ou allergiques à l'apport de bacilles paraffinés. Mais cet isolement n'est pas tel que le bacille soit toléré par les tissus, comme le serait l'excipient seul, bien au contraire : tout se passe comme si l'organisme, en présence d'un bacille très difficile à phagocyter, était obligé de mobiliser des forces d'expulsion beaucoup plus importantes. En effet :

5^o *Les lésions produites par les bacilles en suspension dans les paraffines, sont beaucoup plus importantes que celles qui sont dues aux bacilles en suspension aqueuse.* C'est-à-dire qu'elles sont plus volumineuses, par augmentation de toutes leurs parties constitutives : fibrose, tissu épithélioïde, nécrose. Elles sont aussi plus dispersées.

6^o *Mais il est impossible d'expliquer ces lésions par la simple superposition des actions respectives de l'excipient et des bacilles.* L'action inflammatoire, ou nécrosante, de l'excipient étant inexistante ne peut s'ajouter à celle du bacille comme le ferait celle de l'alun, employé par GLENNY et par RAMON dans des expériences analogues. Pour SAENZ, l'huile de paraffine agirait « en modifiant le terrain au point d'inocu-

lation ». Il semble plutôt qu'elle modifie les affinités de surface du bacille ⁽¹⁾ (en donnant à ce terme un sens très général non restreint aux phénomènes de tension superficielle). A une nouvelle entité pathogène, le « bacille paraffiné », les tissus répondent par une réaction différente.

On connaît des modifications analogues de ces affinités de surface. E. et S. MUDD, REED et RICE ont montré qu'un serum « antituberculeux » modifie le bacille de telle sorte qu'il est plus aisément phagocyté et qu'il perd sa préférence pour la phase huileuse d'un système eau-huile. Ils pensent que certaines globulines de ce serum spécifique « revêtent » le bacille. C'est sans doute une action du même genre qu'exercent les paraffines, sans changer en rien pour cela la « valeur intrinsèque de l'antigène ».

En résumé, pour nous en tenir aux faits évidents, le « bacille paraffiné », comparé au bacille mort en suspension aqueuse :

— se laisse moins bien attaquer par les cellules phagocytaires ;

— crée des lésions d'inoculation plus volumineuses, plus difficiles à résorber et donc plus durables ;

— émigre en petits amas, et crée des lésions métastatiques, dans les ganglions lymphatiques et les poumons.

(1) Nous ne parlons ici que du bacille préalablement tué. Quant au bacille vivant (virulent) voici ce que nous en disent Vallée et Todoroff : « Après un délai de quelques jours seulement, l'huile de vaseline exerce sur lui une action nettement dégradante. Celle-ci se manifeste par une longue et anormale survie des cobayes (inoculés avec 0 cc. 5 d'huile contenant 0 mgr. 1 de souche Vallée) et par la curieuse aptitude du microbe à ne plus guère créer que des lésions localisées au système ganglionnaire » (117). Ces cobayes ont été sacrifiés au 160^e jour, et ne présentaient aucune lésion macroscopique des viscères.

QUATRIÈME PARTIE

ÉTAT ALLERGIQUE ET LÉSIONS ANATOMIQUES

Dans la première partie de notre travail, nous avons rappelé que l'inoculation de bacilles tuberculeux, tués par la chaleur, et mis en suspension dans l'eau physiologique, confère au cobaye et au lapin un certain degré d'hypersensibilité à la tuberculine et de résistance à l'infection tuberculeuse, et fait apparaître des anticorps fixateurs dans le sérum de ces animaux ; puis nous avons montré que l'enrobage des bacilles morts dans la paraffine solide ou liquide permet de conférer aux animaux les mêmes qualités, mais à un degré beaucoup plus élevé, et d'une façon beaucoup plus durable. Nous avons enfin étudié les lésions si spéciales que provoquent les bacilles ainsi préparés. Ces lésions sont caractérisées par l'importance de l'inflammation — et particulièrement de la nécrose — au point d'inoculation, par l'existence de foyers métastatiques ganglionnaires et pulmonaires, enfin par leur longue durée et la persistance, dans leur sein, de nombreux bacilles.

Parmi toutes ces caractéristiques, à laquelle — ou auxquelles — faut-il attribuer les propriétés sensibilisantes, antigènes et relativement vaccinales du mélange bacillifère ?

Nous connaissons si mal le mécanisme de l'hypersensibilité et de l'immunité qu'il est bien difficile de répondre. On admet généralement qu'en tuberculose, l'hypersensibilité et la résistance à l'infection sont liées à la présence de bacilles tuber-

culeux dans l'organisme, et l'étude des enrobages paraffinés prouve, avec plus de netteté que jamais, que la présence de bacilles *vivants* n'est pas indispensable. On admet déjà moins explicitement que la présence de lésions tuberculeuses soit nécessaire, et on ignore quelles qualités ces lésions doivent avoir.

Pour répondre à la question posée plus haut, il faudrait pouvoir faire varier isolément chacune des caractéristiques des lésions ; il faudrait notamment obtenir une lésion locale sans métastase. C'est extrêmement difficile.

1^o On peut diminuer notablement les dimensions de l'abcès local en réduisant à 0,cc 1 le volume de la suspension injectée : les métastases et l'hypersensibilité à la tuberculine n'en sont nullement modifiés. Mais l'abcès local n'a pas été supprimé, son volume est encore très appréciable.

2^o Pour savoir si les métastases jouent un rôle capital, nous avons tenté de les supprimer. Pour cela nous avons excisé chez quelques cobayes le ganglion poplité. Celui-ci est unique, et nous le repérons, au milieu du paquet graisseux qui l'entoure, en injectant quelques gouttes de bleu de méthylène dans la plante du pied. Le lendemain de l'excision nous avons injecté 0,cc. 2 d'huile de paraffine bacillifère dans la plante. ROUVIÈRE et VALETTE ont montré avec quelle rapidité les voies lymphatiques de suppléance s'installent. Nous pensions néanmoins que ces voies ne s'ouvriraient pas avant une dizaine de jours et que le retard apporté aux migrations pourrait éventuellement se traduire par un retard de l'apparition de la sensibilité dermique à la tuberculine. Il n'en a rien été ; chez les témoins le ganglion poplité est devenu palpable au 4^e jour, et l'inguinal superficiel au 7^e. Chez les opérés, ce dernier ganglion était nettement hypertrophié dès le 4^e jour (alors qu'il était resté normal chez des opérés non injectés), soit trois jours *plus tôt* que chez les témoins. Et les opérés, sacrifiés peu après, ont présenté des lésions ganglionnaires et pulmonaires très importantes.

3^o Enfin la nature nous a souvent offert des séries d'animaux inoculés avec de la paraffine bacillifère, où le parallélisme était frappant, entre l'importance des lésions ganglionnaires et pulmonaires d'une part, la sensibilité à la tubercu-

line de l'autre. Mais une même cause, d'ordre général, peut diminuer ou exalter chez le cobaye inoculé sa capacité d'édifier des lésions, — tant au niveau des métastases qu'au point d'inoculation —, en même temps que sa réactivité à la tuberculine, sans qu'il y ait une relation de cause à effet entre ces deux manifestations.

Ainsi l'étude des variations, spontanées ou provoquées, de nos lésions, ne nous apporte pas grand éclaircissement. L'étude de phénomènes très voisins de ceux qui font l'objet de notre travail pourra peut-être, par analogie, nous permettre de mieux comprendre l'importance respective de la lésion d'inoculation et des lésions métastatiques.

CHAPITRE PREMIER

IMPORTANCE DE LA LÉSION LOCALE

L'importance de la lésion locale a été mise en évidence dans une série de tentatives dont le but est d'améliorer l'effet vaccinant des antigènes. Et c'est ici le lieu de rappeler plus en détail les travaux de H. VALLÉE, de LE MOIGNIC et PINOY et de G. RAMON.

§ 1. — *Expériences de H. VALLÉE*

sur la prémunition des bovidés contre la tuberculose.

C'est Henri VALLÉE qui, le premier, a tenté la prémunition contre la tuberculose à l'aide de bacilles avirulents enrobés dans l'huile de paraffine. Il est à remarquer que ces essais sont chez lui la suite logique des réflexions qu'il a mûries au cours de ses recherches sur la bovo-vaccination de BEHRING et sur la vaccination des bovidés à l'aide d'un bacille d'origine équine, devenu avirulent pour le bœuf et le cobaye. Au cours de ces recherches, il est frappé par le fait que la résistance est directement proportionnelle à la quantité et à la virulence des germes introduits au titre vaccinant, mais que quelle que soit sa valeur, sa durée n'excède pas 12-18 mois. Il note que les bacilles vaccins vivants disparaissent des ganglions du bovin vacciné après un temps relativement court (70 jours pour le bacille équin) et que la durée de « l'apparence d'immunité » n'excède guère les délais de la résorption du vaccin par l'organisme. Et au moment où de nombreux chercheurs attribuent leurs mécomptes à l'incomplète résorption de l'antigène par les cellules, et tentent de rendre le bacille

plus résorbable, H. VALLÉE comprend « que l'évolution d'une infection microbienne chronique, tant qu'elle persiste, si obscure ou si latente soit elle, rend l'organisme inapte à une surinfection » et dès 1912 (117) il conseille de rechercher « si le vaccin le plus favorable ne serait pas celui qui offrirait avec les garanties nécessaires d'innocuité, *la plus grande lenteur de résorption* ». Dès lors il tente la prémunition des bovidés par la voie sous cutanée : le bacille équin avirulent vivant, inoculé en suspension physiologique, est totalement éliminé en 3 mois, et la résistance des bovidés, éprouvés 6 mois après l'inoculation, est nulle. Par contre 20 milligrammes des mêmes bacilles vivants, mêlés à 2 cc. d'un « *excipient irrésorbable* », qui est une suspension de grès porphyrisé ou de talc dans l'huile de vaseline, « prolifèrent au sein d'une lésion fibrocaséuse purement locale, sans tendance aucune à la généralisation ⁽¹⁾ » et qui persiste pendant 2 ou 3 ans au moins (121). Après la guerre seulement il peut éprouver des animaux ainsi préparés. « Ceux-ci témoignent deux ans après l'inoculation vaccinnante, d'une *résistance complète* à une épreuve virulente par voie veineuse. Aucune lésion n'apparaît chez les animaux prémunisés à l'heure où depuis plus d'un an, la résistance conférée par tous les modes de vaccination connus, a disparu... Seuls quelques ganglions, indemnes en apparence, recèlent des bacilles virulents » (121-1924).

Dans une expérience poursuivie à Jagny (124), il expose des animaux vaccinés à la contamination naturelle. Leur résistance s'avère beaucoup plus considérable que celle des témoins, mais non complète. Bien que la contagion exceptionnellement sévère à laquelle ont été soumis les animaux soit la cause vraisemblable de cet échec relatif, ces résultats ne répondent pas à l'attente de VALLÉE. Il cherche la cause de ces échecs dans les variations de la lésion de prémunition. « Certains sujets n'édifient pas leur lésion de prémunition, d'autres voient évoluer un foyer kystique passif, d'autres portent un placard dur, mamelonné, constitué par une série

(1) En fait, dans les expériences de Jagny, on a noté l'apparition d'adénopathies régionales. (*Bull. de la Soc. Vétérinaire pratique*, 1925).

de petits foyers actifs ». Il attribue ces variations aux irrégularités de composition de l'huile de paraffine et aux effets nocifs de l'huile sur les bacilles. Aussi conclut-il : « Toutes ces constatations me conduisent à abandonner l'huile de paraffine, pour la suite de mes recherches sur la production de cette *lésion locale active* que je persiste à regarder comme indispensable à l'obtention d'une bonne résistance à l'infection bacillaire » (123).

Mais ses conclusions de 1924 ne sont pas restées sans suite. Il écrivait alors : « On doit s'efforcer de mettre à profit pour la protection contre l'évolution des *maladies microbiennes à allure chronique*, cet artifice de la création d'une lésion locale irrésorbable et inextensible ». Il pense particulièrement à l'entérite paratuberculeuse et à l'avortement épizootique des bovidés. Or, pour la première de ces épizooties, ses travaux avec RINJARD (119) ont pleinement confirmé ses prévisions, pour le plus grand profit de nombreuses exploitations. D'autre part les travaux de VELU et ZOTTNER (128) font espérer que la prémunition de l'avortement épizootique par des *Brucella* vivantes « en excipient gras » (huile de paraffine 3, lanoline 1) est réellement efficace et inoffensive.

H. VALLÉE avait aussi pensé à l'utilisation des germes tués : « Des constatations personnelles, dit-il en 1924, nous conduisent à penser que les bacilles tuberculeux tués inoculée en excipient irrésorbable sont aussi capables de procurer des résultats du même ordre ». Mais il ne relate aucune observation.

VELU et ZOTTNER, à l'aide de *Brucella* tuées, en excipient gras, ont réussi à sensibiliser de grands animaux à la mélitine, et à provoquer d'abondantes agglutinines chez le lapin ; mais les résultats cliniques semblent inférieurs à ceux qu'on obtient par des *Brucella* vivantes en excipient gras.

Recherchant une lésion *durable* afin d'obtenir une prémunition *durable*, VALLÉE obtient par surcroît une prémunition d'un *degré très élevé*, nettement plus efficace que celle que donnent les germes morts en suspension aqueuse, qu'il s'agisse de bacilles de Koch ou de *Brucella*.

Et ses travaux se rencontrent ainsi avec ceux de LE MOR-

GNIC et PINOY et de G. RAMON, qui ont trait à des phénomènes d'immunité vraie et non plus de prémunition.

LE MOIGNIC et PINOY, en 1916 (68) annoncent qu'ils vaccinent la souris contre une infection à bacilles paratyphiques ou à bacilles de Danysz, à l'aide de ces microbes, mis en suspension, vivants, dans un mélange de lanoline et d'huile de paraffine. L'émulsion se stérilise spontanément en trois semaines. Ces auteurs ne mentionnent pas les réactions locales, mais attribuent leurs succès : 1^o au fait que les microbes ne s'autolysent pas *in vitro* comme dans l'eau physiologique, et 2^o au fait que leur résorption *in vivo* est plus lente. Ce dernier avantage permet de réaliser chez l'homme une vaccination efficace avec une réaction générale minime, c'est l'origine du *lipo-vaccin* de LE MOIGNIC et SÉZARY.

§ 2. — *Travaux de G. RAMON sur les facteurs adjuvants et stimulants de l'immunité spécifique.*

La constatation première de G. RAMON, en 1925, est la coïncidence, chez certains chevaux fournisseurs de sérum antidiphtérique, d'une *vive inflammation locale* au point d'injection de l'antigène et d'une élévation du taux d'antitoxine spécifique (85).

Reproduisant artificiellement cette inflammation locale, en enrobant les toxines diphtérique ou tétanique, ou encore des microbes vivants (bactéridie charbonneuse) dans différents excipients (tapioca, alun, gélose, lanoline additionnée d'huile d'olive ou de vaseline, vaccin antityphoïdique) soit en pratiquant au même point des injections multiples et rapprochées de doses fractionnées d'antigène non enrobé (« immunisation concentrée »), RAMON constate :

1^o Un accroissement de la résistance *non spécifique* à l'intoxication, se traduisant par la tolérance de doses de toxine ou de microbes beaucoup plus élevées que lorsque ces agents sont inoculés sans excipient et en une seule fois.

2^o Un accroissement de la valeur de l'*immunité spécifique* développée par l'antigène (microbes, toxine ou anatoxine).

Seul le second phénomène nous intéresse ici. RAMON en donne l'explication suivante : « les tissus de la porte d'en-

trée deviennent le siège de phénomènes réactionnels provoqués soit par la substance adjuvante soit par l'antigène lui-même... La toxine n'est pas détruite, elle est seulement altérée dans sa nocivité, mais non dans son pouvoir antigène ». Le pouvoir antigène intrinsèque n'est pas modifié par les substances adjuvantes ; mais « au cours de sa diffusion graduelle dans les tissus, l'antigène subit l'action des éléments en jeu dans les manifestations inflammatoires de cet ordre et qui le préparent à une assimilation plus complète et aussi à une utilisation meilleure dans la production de l'antitoxine spécifique » (85 bis).

Quelque mystérieux que reste encore ce mécanisme, le rôle des phénomènes inflammatoires locaux est nettement démontré par G. RAMON. Le retard apporté à l'absorption de l'antigène a pour lui moins d'importance : l'absorption est en effet « graduelle », mais complète en un temps relativement court. Aussi bien RAMON ne cherche-t-il pas à prolonger la durée de l'immunité, mais à en exalter l'efficacité.

Signalons que l'huile de paraffine pure s'est montrée, dans les expériences de Ramon, une très mauvaise « substance adjuvante » (contrairement à la lanoline). C'est sans doute parce qu'elle ne provoque guère d'inflammation par elle-même. Comme nous l'avons vu, c'est le « bacille paraffiné » et non la paraffine qui est la cause des lésions que nous avons décrites. Ceci laisse penser que les substances adjuvantes n'agissent pas toutes par le même mécanisme intime.

D'autres faits établissent également l'importance de l'inflammation locale, dans la production de l'état allergique.

1^o *En clinique humaine*, le B. C. G., inoculé par voie sous-cutanée ou intradermique, confère beaucoup plus régulièrement la sensibilité à la tuberculine lorsque les sujets vaccinés ont réagi par un nodule ou un abcès. (Voir, entre autres, FOLEY (39) et KERESZTURI (52)) (1).

2^o *Chez le cobaye* : PÉTROFF et ZINSSER insistent sur le

(1) Cependant Weill-Hallé et M^{lle} Birencoewej ont obtenu régulièrement la sensibilisation à la tuberculine d'une série de 71 nouveau-nés, sans provoquer aucune lésion locale palpable. Ils répartissent 0 mgr. 05 de B. C. G., en deux injections sous-cutanées, pratiquées dans les régions axillaires. (Ac. Méd., 5 oct. 1937).

parallélisme entre l'étendue des lésions locales dues aux bacilles morts, et le degré de la sensibilité à la tuberculine.

BRANCH et CUFF n'obtiennent la sensibilisation, avec des bacilles morts en inoculation intramusculaire, qu'avec de grosses doses (8 mgr. de bacilles pesés secs) capables de créer un abcès caséeux. De plus petites doses sont caséogènes sous la peau, dans le testicule ou dans le péritoine, et confèrent l'hypersensibilité. Les auteurs en concluent que celle-ci est liée à l'existence d'une lésion caséreuse. L'importance de la nécrose dans les lésions dues aux bacilles paraffinés viendrait à l'appui de leur conception.

BOQUET et LAPORTE n'obtiennent une résistance appréciable avec des bacilles tués qu'en employant certaines souches bovines lisses, extrêmement virulentes, et qui, même tuées, donnent des abcès particulièrement importants au point d'inoculation (12).

3^o *Chez le lapin*, OPIE et FREUND obtiennent une résistance très remarquable, par une douzaine d'inoculations intradermiques hebdomadaires de bacilles tués. Or, l'animal se sensibilise peu à peu et les inoculations provoquent bientôt des nodules inflammatoires ou des abcès. Peut-être cette inflammation allergique joue-t-elle un rôle important, en rendant à son tour l'inoculation plus allergisante.

CHAPITRE II

IMPORTANCE DES FOYERS MÉTASTATIQUES

Mais d'autres faits nous font penser que les foyers métastatiques ont aussi un rôle important à jouer, et ne sont pas seulement un épiphénomène.

Les bacilles vivants eux-mêmes semblent agir mieux s'ils dépassent la porte d'entrée. CALMETTE pensait que « l'état d'immunité en tuberculose est lié à la présence de quelques bacilles dans le système ganglionnaire lymphatique » ; BOQUET (8) pense que « l'immunité antituberculeuse du lapin et du cobaye est moins liée à l'existence du complexe primaire qu'à l'*activité* de celui-ci, à sa *perméabilité* qui favorise la pénétration des bacilles dans les voies lymphatiques et sanguines ».

En clinique humaine, le B. C. G. par voie intradermique sensibilise les enfants à la tuberculine, d'autant plus régulièrement que les ganglions régionaux ont subi des altérations décelables ; KERESZTURI (52) donne les chiffres suivants :

pas d'adénopathie, 42 % de réactions de MANTOUX positives ;

adénopathies non suppurées, 83 % ;

adénopathies suppurées, 100 % (1).

Pour ce qui a trait aux bacilles morts, nous rapporterons les quelques faits suivants :

1^o Si à un lapin rendu allergique par de la paraffine bacillifère, on coupe l'oreille qui contient l'abcès paraffiné, le lapin reste allergique (COULAUD). Ceci montre que les quelques

(1) Voir note précédente.

foyers ganglionnaires et pulmonaires métastatiques suffisent à entretenir l'allergie.

2^o Si on injecte à des lapins une même dose de bacilles morts en suspension dans l'*huile d'olive*, aux uns sous la peau, aux autres dans la veine, on crée chez les seconds une hypersensibilité à la tuberculine — mesurée par la réaction thermique — de beaucoup supérieure à celle des premiers ; la résistance des seconds à une infection d'épreuve — par voie veineuse — est également très supérieure à celle des premiers (COULAUD). (28)

3^o Si on injecte à des cobayes une même quantité de bacilles tués, en suspension dans l'*huile d'olive*, aux uns sous la peau, aux autres dans la trachée, on obtient chez les seconds une sensibilité dermique à la tuberculine nettement supérieure à celle des premiers.

Dans ces deux cas la *dispersion* des bacilles et des lésions est, dans les poumons, beaucoup plus grande qu'au niveau de l'inoculation sous-cutanée.

4^o Si on injecte à des cobayes, comme SAENZ l'a fait, des bacilles enrobés dans l'*huile d'olive* ou dans la lanoline, on observe une augmentation de la sensibilité à la tuberculine, mais celle-ci est plus tardive et plus faible qu'avec la paraffine liquide. Or, dans ces cas, les lésions ganglionnaires ou pulmonaires sont infimes ou inexistantes, la lésion d'inoculation souvent énorme.

5^o R. SCHWARTZ (107) a montré que les anticorps apparaissent plus tardivement, disparaissent plus rapidement et sont beaucoup moins abondants chez les lapins qui ont reçu une dose unique de 2 milligrammes de B. C. G. sous la peau, que chez les animaux n'ayant reçu que 1 mgr. 4 des mêmes bacilles, répartis sur un grand nombre d'injections en différents endroits du corps (4 par jour pendant 7 jours).

Dans la prémunition antituberculeuse du cobaye, des injections sous-cutanées de 0 mgr. 025 de B. C. G. répétées 28 fois pendant 7 jours se montrent plus efficaces que l'injection unique d'une quantité plus élevée (1 mgr.) de B. C. G. Lorsque les 28 injections sont faites en divers endroits de l'organisme, il semble que les animaux présentent une résis-

tance légèrement supérieure à celle des cobayes qui ont reçu les injections toujours au même endroit.

Sans vouloir faire jouer un rôle spécial au *tissu* lymphatique ou pulmonaire, on ne peut qu'être frappé de l'importance de la *dispersion des lésions*, dans ces différents exemples. Certes, on a montré, et nous l'avons vu aussi, que la dispersion seule des bacilles est insuffisante pour créer l'allergie. Cinq milligrammes de bacilles tués, injectés dans la veine d'un cobaye, en suspension aqueuse, ne lui confèrent généralement aucune sensibilité à la tuberculine. Mais on ne peut comparer les lésions légères et passagères ainsi créées à celles, visibles à l'œil nu et durables, que donne dans les poumons, par voie métastatique, une injection sous-cutanée de paraffine bacillifère. La *dispersion* n'est pas tout ; la *fixation* des bacilles au sein de lésions d'une certaine qualité est aussi nécessaire. Et ces lésions métastatiques sont autant de nouveaux « points d'inoculation » où pourront s'exercer sur l'antigène les influences analysées par G. RAMON.

CHAPITRE III

CONCLUSION

Il est impossible actuellement de pénétrer plus avant dans le mécanisme de l'influence des paraffines sur le pouvoir sensibilisant et vaccinant des bacilles de Koch tués.

L'étude de l'action anatomique et immunitaire de divers excipients gras est à peine ébauchée. L'étude chimique de l'action des paraffines sur le bacille de Koch n'a pas été abordée. On peut escompter qu'elle nous apportera quelques nouvelles précisions.

On peut espérer aussi obtenir une meilleure vaccination du cobaye et du lapin par des bacilles paraffinés. Jusqu'ici n'ont été employés que des bacilles de virulence moyenne, tués sans précaution à 120°. D'autre part, on n'a pas étudié l'action des bacilles avirulents vivants et enrobés.

Mais quelles conséquences pratiques pouvons-nous en espérer ? Que, dans l'étude de l'hypersensibilité, de l'immunité, des différents anticorps antituberculeux, il soit précieux d'avoir des animaux qui ne sont pas porteurs de bacilles vivants, nul n'en doute. En pratique vétérinaire et humaine, la question est différente. Autant qu'on peut en juger aujourd'hui, la vaccination obtenue par des bacilles morts enrobés dans la paraffine n'est sans doute pas supérieure à celle que Vallée obtient avec des bacilles avirulents « en excipient irrésorbable », ni à celle que les injections de B. C. G. confèrent à l'enfant. Les craintes qu'on avait exprimées autrefois au sujet d'une récupération possible de la virulence du B. C. G. se sont évanouies, et la sécurité que donnerait l'introduction dans l'organisme d'un bacille tué ne compense pas le sérieux inconvénient que représente l'abcès paraffiné. Il semble jusqu'ici plus simple de pratiquer des revaccinations fréquentes à l'aide du B. C. G.

CONCLUSIONS

I. — Les bacilles tuberculeux des mammifères, tués par la chaleur et mis en suspension dans l'eau physiologique, peuvent par inoculation sous-cutanée, conférer au cobaye une hypersensibilité dermique à la tuberculine, qualitativement identique à celle que présentent les cobayes tuberculeux.

La réalité de cette sensibilisation a été longtemps mise en doute, en raison de la grande irrégularité de son apparition.

Sa durée ne dépasse pas quelques mois, et son intensité n'atteint jamais celle de la sensibilité des cobayes tuberculeux.

On peut obtenir des résultats plus réguliers et plus durables, en empruntant la voie péritonéale, tout en augmentant les doses et en répétant les inoculations.

Les voies intraveineuse et intramusculaire sont très défavorables. La voie intradermique semble supérieure à la voie sous-cutanée.

Des constatations analogues ont été faites chez le lapin.

II. — Les mêmes bacilles, en suspension physiologique, peuvent conférer au cobaye et au lapin une certaine résistance vis-à-vis de l'infection tuberculeuse. Ce phénomène apparaît encore plus irrégulièrement que celui de la sensibilisation à la tuberculine. Cette résistance ne se traduit en général que par un léger retard dans l'évolution de l'infection d'épreuve.

III. — Les bacilles tuberculeux, tués par la chaleur, inoculés en suspension physiologique, créent des lésions exclusivement localisées au point où les bacilles ont été déposés.

IV. — Les bacilles tuberculeux, tués par la chaleur, mis en suspension dans la paraffine solide ou liquide, et inoculés en une seule fois sous la peau ou dans le muscle, confèrent au cobaye et au lapin une sensibilité à la tuberculine dont l'intensité atteint celle de la sensibilité des cobayes tuberculeux.

Cette sensibilisation apparaît très régulièrement.

Elle est plus précoce, nettement plus intense et plus durable que celle que produisent les mêmes bacilles tués, inoculés aux mêmes doses, par les mêmes voies, mais en suspension aqueuse physiologique.

V. — On peut, chez les cobayes rendus ainsi hypersensibles à la tuberculine, provoquer le phénomène de Koch et des péritonites allergiques. Mais la mort par intoxication tuberculinique ne survient que dans des conditions spéciales.

VI. — Cet état allergique comporte une résistance à l'infection tuberculeuse qui se traduit par un retard important dans l'évolution de l'infection d'épreuve. Ce retard est nettement plus grand que celui que permet l'inoculation unique d'une même dose de bacilles tués en suspension aqueuse.

Ces deux faits montrent que les propriétés allergisantes du bacille tuberculeux tué se rapprochent de celles du bacille vivant beaucoup plus qu'on ne le pensait jusqu'ici.

VII. — Les lésions locales produites par les bacilles enrobés dans les paraffines sont beaucoup plus volumineuses et durables que celles que produisent les bacilles en suspension aqueuse. La phagocytose des corps bacillaires y est très réduite.

VIII. — Ces lésions locales s'accompagnent d'importantes métastases ganglionnaires et pulmonaires. Ce sont autant de granulations tuberculeuses au centre desquelles on retrouve, pendant très longtemps, le bacille et son excipient.

IX. — La paraffine pure, solide ou liquide, est incapable

à elle seule de créer de telles lésions : la tolérance des tissus à son égard est remarquable. Mais son aptitude à émigrer par les vaisseaux lymphatiques est la cause des métastases bacillifères observées.

X. — L'importance des phénomènes inflammatoires au foyer d'inoculation d'une part, la dispersion et la fixation du bacille dans les ganglions régionaux et les poumons d'autre part, semblent expliquer l'intensité de l'allergie observée après inoculation de bacilles morts enrobés dans les paraffines. Mais la part respective de ces deux facteurs n'a pu être précisée.

VU : *Le Doyen,*
TIFFENEAU.

VU : Le Président de la thèse,
HARVIER.

VU ET PERMIS d'IMPRIMER :
Le recteur de l'Académie de Paris,
ROUSSY

BIBLIOGRAPHIE

1. BAIL (O.). — *Wien. Klin. Wochen.*, 1904, t. 17, p. 846.
2. BAIL (O.). — *Wien. Klin. Wochen.*, 1905, t. 18, p. 241.
3. BALDWIN. — *Journ. of Med. Research*, 1910, t. 22.
4. BALDWIN et GARDNER. — *Am. Rev. of Tbc.*, 1921, t. 5, p. 429.
5. BERG (A.). — *Beit. zur Klinik der Tbk.*, 1935, t. 87, p. 252.
6. BESSAU. — *Berl. Klin. Woch.*, 1916, p. 805.
7. BOQUET (A.). — Phénomène de Koch et réaction tuberculinique, *C. R. Soc. Biol.*, 1932, t. 110, p. 769.
8. BOQUET (A.). — *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1933, t. 50, p. 5.
9. BOQUET (A.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1933, t. 112, p. 1168.
10. BOQUET et BRETEY. — *Ann. de l'Inst. Pasteur* 1934, t. 52, p. 252.
11. BOQUET et BROCA. — *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1935, t. 55, p. 8.
12. BOQUET et LAPORTE. — *C. R. Soc. Biol.*, t. 124, p. 1159.
13. — Sur la dispersion des bacilles d'épreuve dans l'organisme des cobayes tuberculeux. *C. R. Soc. Biol.*, 1936, t. 121, p. 241.
14. — Sort des bacilles d'épreuve dans l'organisme des cobayes tuberculeux surinfectés par voie veineuse. *C. R. Soc. Biol.*, 1937, t. 124, p. 1156.
15. BOQUET et NÈGRE. — *C. R. Soc. Biol.*, 21 avril 1923, t. 88.
16. — *Ann. Inst. Pasteur*, 1926, t. 40, p. 11.
17. BORDET (J.). — *Traité de physiol. normale et pathologique*, Paris, Masson, 1926, t. VII, pp. 413 et 421.
18. BORREL (A.). — Nécrotuberculose et sensibilisation (anaphylaxie) par bacilles morts. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1908, t. I.
19. BRANCH et CUFF. — *Journ. of Inf. diseases*, 1930, t. 47, p. 151.
20. BRISSY. — *Thèse Paris*, 1907-1908.
21. BURNET (E.). — *Ann. Inst. Pasteur*, 1915, p. 119.
22. CALMETTE et GUÉRIN. — *Ann. Inst. Pasteur*, 1906, t. 20, p. 609.
23. — *Ann. Inst. Pasteur*, 1907, t. 21, p. 525.
24. — *Ann. Inst. Pasteur*, 1914, t. 28, p. 239.
25. CALMETTE (A.). — *L'infection bacillaire et la tuberculose*, Paris, Masson, 1936.
26. CANTACUZENE. — *Ann. Inst. Pasteur*, 1905, t. 19, p. 699.
27. COULAUD (E.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1923, t. 89.
28. — *Rev. de la Tub.*, 1929, t. 10, n° 4.
29. — *Rev. de la Tub.*, 1934, p. 850.
30. — *Rev. de la Tub.*, 1935, p. 1181.
31. — *Bull. Acad. Méd.*, 4 février 1936, t. 115 p. 232.

32. — *Ann. Inst. Pasteur*, 1930, t. 44 p. 59.
33. COULAUD (E.) et FROCME (S.). — *Bull. Acad. Méd.*, 1937, t. 117, p. 368.
34. CRAWFORD. — *Journ. of Am. veter. med. Ass.*, 1923, t. 64.
35. DUPREZ (Chr.). — *C. R. Soc. Biol.*, t. 117, pp. 832-834.
36. FAURÉ-FRÉMIET. — A propos des cellules à graisses de l'alvéole pulmonaire. *C. R. Soc. Biol.*, 1930, t. 83, p. 11.
37. FAURÉ-FRÉMIET et DU VIVIER DE STREEL. — *Annales d'Hyp. publ.*, 1920, p. 272.
38. FAVRE et CIVATTE. — Vasinome ganglionnaire, *C. R. Soc. Biol.*, 1921, t. 84, p. 8.
39. FOLEY, PARROT, CEARD, CHAMPOUILLOT. — *Ann. Inst. Pasteur*, 1931, t. 47, p. 245.
40. FREUND (J.). — *Proc. exp. biol. and Med.*, 1931-32, 29, p. 1200.
41. FREUND (J.) CASALS et HOSMER. — *Proc. of the Soc. for Exp. Biol. and Med.*, 1937, t. 37, p. 509.
42. GAIGINSKY et LAPORTE. — *C. R. Soc. Biol.*, 1934, t. 117, p. 569.
43. GARDNER (L. U.). — *Am. Rev. of Tbc.*, 1930, t. 22, p. 379.
44. GILBERT et JOMIER. — *C. R. Soc. Biol.*, 1905, t. 58, p. 87.
45. GRANCHER et LEDOUX-LEBARD. — *Arch. de Méd. exp.*, 1892-4-25.
46. GRANEL. — *C. R. Soc. Biol.*, 1919, t. 82, p. 1329.
47. HAGAN et LEVINE. — *Journ. of Am. Veter. Med. Assoc.*, 1932, t. 81, p. 723.
48. HENSEL (G.). — *Beiträge z. Kl. der Tbk.*, 1937, 90, 388.
49. — Avril 1938, 91, 442.
50. HUGHES (J.). — *Jour. of Imm.*, 1933, t. 25, p. 103.
51. JENSEN. — *Acta Pathol. Scand.*, 1930, Sup. 3, p. 181.
52. KERESZTURI, ROSENBERG et PARK. — *Am. Rev. of Tbc.*, 1937, t. 36, p. 90.
53. JUCKUFF. — *Arch. für. exp. Path. und Pharm.*, 1893, t. 32, p. 124.
54. KOCH (Robert). — *Fortsetzung der Mitteilungen über ein Heilmittel gegen Tuberkulose. Deut., Med. Woch.*, 1891, n° 3.
55. — *Ueber die Immunisierung der Rinder gegen Tbk. Zeit. für Hyg.*, 1905, Bd. 51.
56. KRAUSE (Allen). — *Trans. Nat. Tub. Assoc.*, 1921, p. 349 (cité par Petroff).
57. — *Am. Rev. of Tbc.*, 1926, t. 14, p. 211.
58. — *Am. Rev. of Tbc.*, 1920, t. 4, p. 135.
59. KRAUSE (A.) et PETERS (D.). — *Am. Rev. of Tbc.*, 1920, t. 4, p. 551.
60. KROMPECHER. — *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1900, t. 14, p. 723.
61. LANGE (B.) et LYDTIN. — *Zeit. f. Tbk.*, 1930, Fasc. 1-2.
62. — *Zeit. f. Hyg.*, 1929, t. 110, p. 209.
63. LANGE (B.) et FREUND. — *Zeit. f. Hyg.*, 1926, t. 105, p. 571.
64. LANGE (B.) FREUND et JOCHINSEN. — *Zeit. f. Hyg.*, 1927, t. 107, p. 426.
65. LANGER. — *Klin. Wochenschr.*, 1924, p. 19-44.
- *Deut. Med. Woch.*, 1925, p. 513.

66. LAPORTE et GAIGINSKY. — *C. R. Soc. Biol.*, 1934, t. 117, p. 963.
1935, t. 118, p. 1164.
67. LE CARPENTIER-DUBOSQ. — *Thèse*, Paris, 1920-21.
68. LE MOIGNIC et PINOY. — *C. R. Soc. Biol.*, 1916, t. 79, pp. 201, 352.
69. LE MOIGNIC et SÉZARY. — *C. R. Soc. Biol.*, 1919, p. 1004.
70. MACHEBŒUF et DIERYCK. — *C. R. Acad. Sciences*, 1936, p. 164.
1938, p. 1058.
71. MANTOUX. — *C. R. Ac. des Sciences*, 1908, t. 147, p. 355.
72. MANWARING et BRONFENBRENNER. — *Jour. of Exp. Med.*, 1913, t. 18,
p. 601.
73. MARTIN (Louis) et VANDREMER. — *C. R. Congrès Internat. Paris*,
1900, Sect. bact., *C. R. Soc. Biol.*, 1906, t. 88, p. 258.
74. MUDD (E. et S.). — *Jour. of Exp. Med.*, 1924, t. 40 pp. 633 et 647.
75. — 1927, t. 46, p. 167.
76. NEUMANN (J.). — *Thèse*, Paris, 1937.
77. OPIE (E) et FREUND (J.). — *Jour. of Exp. Med.*, 1937, t. 66, p. 761.
78. PÉTROFF. — *Am. Rev. Tbc.*, 1923, t. 7, p. 412.
79. PÉTROFF et STEWART. — *Jour. of Imm.*, 1925, t. 10, p. 677.
80. — *Jour. of Imm.*, 1926, t. 12, p. 97.
81. PÉTROFF, BRANCH, JENNINGS. — *Jour. of Imm.*, 1929, t. 16, p. 233.
82. PIECHAUD. — *Thèse*, Bordeaux, 1920-21.
83. PIRQUET (von). — Zur Frage der Aggressins. *Wiener Kl. Woch.*, 1905,
t. 18, p. 531.
84. PRUDDEN et HODENPYL. — New York, *Med. Jour.*, 6-20 juin 1891.
85. RAMON (G.). — *Recueil de Méd. Véter.*, 1925, t. 101, p. 227.
- 85 bis. — *Revue d'Immunologie*, 1937, t. 3, 1938, t. 4, p. 5.
86. REED et RICE. — *Journ. of Bacter.*, 1931, t. 22, p. 239.
87. RICH (A. R.). — Dissociation of hypersensitivity from Immunity.
Revue d'Immunologie, 1937, t. 3, p. 25.
88. RIST (E.) KINDBERG (Léon) et ROLLAND (J.). — Etude sur la réin-
fection tuberculeuse, *Ann. de med.*, 1914, t. 1, pp. 310 et 375.
89. RIST (E.) et ROLLAND. — La réinfection cutanée et le phénomène de
Koch: *Ann. de Méd.*, 1914, t. 2, p. 13.
90. RIST (N.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1937, t. 126, p. 185.
91. RIVAL. — *Thèse*, Paris, 1920-21.
92. ROMER. — *Beitr. zur Kl. der Tbk.*, 1908, t. 12, p. 185.
93. — 1909, t. 14, p. 1.
94. ROMER et JOSEPH. — *Beitr. zur Kl. der Tbk.*, 1909 et 1910.
95. ROTHSCHILD, FRIEDENWALD et BERNSTEIN. — *Bull. of J. Hopkins*
Hosp., 1934, t. 54.
96. ROUVIÈRE et VALLETTE. — *Physiologie du système lymphatique*,
Paris, Masson 1937.
97. SABIN (F.) DOAN et FORKNER. — *Jour. of Exp. Med.*, 1930, Vol. 52,
n° 6, Suppl. n° 3, p. 28 et 52.
98. SAENZ (A.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1935, t. 120, p. 1050.
99. — *Ann. Inst. Past.*, 1938, t. 60, p. 58.
100. — *Revue d'Immunologie*, 1937, p. 530.

101. — *C. R. Soc. Biol.*, 27 juin 1936, t. 122, p. 911.
102. — *C. R. Soc. Biol.*, 1937, t. 124, p. 338.
103. — *C. R. Soc. Biol.*, 1935, t. 120, p. 870.
104. SAENZ et VAN DEINSE. — *C. R. Soc. Biol.*, 1930, t. 103, p. 574.
105. SAKURANE. — *Arch. für Derm. u. Syph.*, 1906, t. 80, p. 401 et 1907, t. 88, p. 291.
106. SALEY, WILLIS ELLWORN. — Oléothorax expérimental, *Am. Rev. Tbc.*, 1938, t. 37, p. 245.
107. SCHWARTZ. — *C. R. Soc. Biol.*, 1938, t. 127, pp. 100-779.
108. SELTER. — *Zeit. für Imm.*, 1924, t. 32, p. 325.
109. SERGENT ET GASPARD — *Presse Méd.* 1932, p. 1917.
110. SERGENT (Ed.), PARROT et DONATIEN. — *Bull. Soc. Path. exotique*, 17 janvier 1924, p. 37.
111. SERGENT (Ed.) et PARROT. — *Ann. Inst. Pasteur*, 1935, t. 55, p. 400.
112. SMITH (Th). — *Jour. of Am. Med. Assoc.*, 1917, t. 58, p. 767.
113. STRAUS et GAMALEIA. — *Arch. de Méd. exp*, 1891, t. 3, p. 705.
114. TEISSIER, REILLY et RIVALIER. — Recherches sur l'imm. typhique, *Ann. Med.*, 1930 avril.
115. THOMSON (H. M.). — *Am. Rev., of Tbc*, 1932, t. 26, p. 162.
116. UHLENHUT. — *Deut. Med. Woch.*, 1923, n° 49, p. 1197.
117. VALLÉE (H.). — Rapports scientifiques sur les travaux entrepris en 1911 au moyen des subventions de la Caisse de recherches scientifiques. Melun 1912, p. 515.
118. — *Bull. Institut Pasteur*, 1915, p. 65.
119. — *Bull. Acad. Méd.*, 25 janvier 1938.
120. — *C. R. Soc. Biol.*, juin 1906, t. 87.
121. — *Revue gén. de Méd. vétér*, 1924, t. 33, p. 1.
122. — *C. R. Ac. Sciences*, 1924, t. 178, p. 152.
123. — *Bull. de la Soc. Véter. prat.*, juin 1927, p. 150.
124. — Expériences de Jagny. *Bull. de la Soc. vét. prat.*, 1924 n° 7, 8, 9, 1925 n° 6, 11, 1926 n° 1, 4.
125. VALLÉE et TODOROFF. — *Bull. de la Soc. vét. prat.*, juin 1927, p. 152.
126. VAN DEINSE. — *Ann. Inst. Pasteur*, 1937, t. 59, p. 182.
C. R. Soc. Biol., 1938, t. 127, p. 202.
127. — VELU (A.), ZOTTNER et SARTHOU. — *C. R. Soc. Biol.* 1935, t. 119, p. 857.
128. — *Arch. de l'Inst. Pasteur d'Algérie*, 1937, Fasc. 7, p. 76.
129. WILLIS (H. S.). — *Am. Rev. of Tbc.*, 1925, t. 11, pp. 427-439.
130. — *Am. Jour. of Pathol.*, 1926, t. 2, p. 446.
131. ZINSSER. — *Jour. of Exp. Med.*, 1921, t. 34.
132. ZINSSER et PETROFF. — *Jour. of Imm.*, 1924, t. 9, p. 85.
133. ZINSSER, WARD et JENNINGS. — *Jour. of Imm.*, 1925, t. 10, p. 719.

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	1
--------------------	---

PREMIÈRE PARTIE

HISTORIQUE. GRANDEUR ET DÉCADENCE DES BACILLES TUBERCULEUX MORTS.....	5
--	----------

CHAPITRE PREMIER. Sensibilisation à la tuberculine par les bacilles tuberculeux morts, en sus- pension aqueuse	9
CHAPITRE II. — Immunité conférée par les bacilles tuberculeux morts, en suspension aqueuse	15
CHAPITRE III. Conclusion	20

DEUXIÈME PARTIE

SENSIBILISATION ET VACCINATION PAR LES BACILLES TUBERCULEUX MORTS ENROBÉS DANS LES PARAFFINES

Technique expérimentale	23
CHAPITRE PREMIER. -- Hypersensibilité à la tuberculine....	26
A. — Lapins	26
Anticorps circulants	28
B. — Cobayes	29
1. Sensibilité dermique	29
2. Sensibilité générale	37
3. Sensibilité du péritoine aux corps bacillaires.....	38
C. — Essais comparatifs avec d'autres huiles et d'autres germes tués	42
CHAPITRE II. — Vaccination	44
Introduction	44
Expériences de surinfection.....	48
A. — Lapins	49
B. — Cobayes	51

I. Epreuve virulente par voie dermique ou sous-cutanée	51
Paraffine solide (COULAUD)	51
Huile de paraffine (SAENZ)	51
Vaseline et lanoline (HENSEL)	54
II. Epreuve virulente par voie péritonéale	55
§ 1. Observation de COULAUD	55
§ 2. Première série de contrôles	56
§ 3. Deuxième série de contrôles	64
§ 4. Conclusion	67
§ 5. La question de la bactériolyse péritonéale.....	68
CHAPITRE III. — Immunité et hypensensibilité	71
Conclusion	76
 TROISIÈME PARTIE 	
ANATOMIE PATHOLOGIQUE	79
CHAPITRE PREMIER. — Lésions produites par les injections sous-cutanées et intramusculaires de paraffines bacillifères	82
A. — Lésions locales	82
B. — Métastases ganglionnaires	85
C. — Métastases pulmonaires	92
D. — Influence de la quantité d'huile de paraffine.....	107
E. — Quelques essais par des voies et avec des microbes variés	108
CHAPITRE II. — Lésions produites par les bacilles morts en suspension dans l'eau physiologique	112
A. — Lésions locales	112
B. — Lésions ganglionnaires	113
C. — Lésions pulmonaires	114
D. — Conclusion	116
CHAPITRE III. — Lésions et migrations observées après injection de paraffine et d'huile de paraffine pures	118
A. — Lésions locales	119
B. — Lésions ganglionnaires	123
C. — Lésions pulmonaires	125
D. — Conclusion	126

CHAPITRE IV. — Mécanisme des lésions et des migrations....	127
A. — Trajet des migrations	127
B. — Mécanisme des migrations	128
C. — Mécanisme des lésions.....	131
§ 1. Filtrat d'huile de paraffine bacillifère	131
§ 2. Phénomène de Koch par l'huile bacillifère.....	133
CHAPITRE V. — Conclusion	135

QUATRIÈME PARTIE

ÉTAT ALLERGIQUE ET LÉSIONS ANATOMIQUES..	138
CHAPITRE PREMIER. — Importance de la lésion locale	141
§ 1. Expériences de H. VALLÉE	141
§ 2. Expériences de G. RAMON	144
CHAPITRE II. — Importance des foyers métastatiques	147
CHAPITRE III. — Conclusion	150
CONCLUSIONS	151
BIBLIOGRAPHIE	155
TABLE.....	159

Saint-Amand (Cher). — Imprimerie R. BUSSIÈRE. — 3-6-1938.

